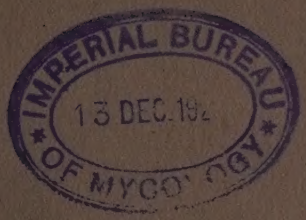
**Pierre NOBÉCOURT**

*Docteur ès sciences*

*Ancien Assistant de Physiologie générale et comparée*
*à la Faculté des Sciences de Lyon.*
*Assistant à l'Institut Arloing de Tunis*




# CONTRIBUTION à L'ÉTUDE de l'IMMUNITÉ chez les VÉGÉTAUX

LYON
Imprimerie BOSC Frères & RIOU
42, Quai Gailleton, 42

1927

# CONTRIBUTION à l'ÉTUDE de l'IMMUNITÉ chez les VÉGÉTAUX

# CONTRIBUTION à L'ÉTUDE de l'IMMUNITÉ chez les VÉGÉTAUX

PAR

**Pierre NOBÉCOURT**

*Docteur ès sciences*

*Ancien Assistant de Physiologie générale et comparée à la Faculté des Sciences de Lyon.*

*Assistant à l'Institut Arloing de Tunis*

LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

—

1927

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ CHEZ LES VÉGÉTAUX

## AVANT-PROPOS

Au moment d'exposer le résultat de recherches poursuivies tour à tour dans les Laboratoires de Botanique et de Physiologie générale et comparée de la Faculté des Sciences de l'Université de Lyon, puis à l'Institut Arloing de Tunis, notre pensée se plaît à se reporter vers tous ceux qui, de quelque manière que ce soit, ont contribué à nous permettre de mener à bonne fin le travail que nous avions entrepris sur un sujet passionnant, mais ardu.

Nous avons ainsi contracté une grande dette de gratitude envers MM. les Professeurs Gérard et Beauverie, pour le bienveillant accueil qu'ils nous ont successivement réservé dans leur Laboratoire, où nous avions déjà travaillé à nos recherches en vue du Diplôme d'Etudes Supérieures de Sciences Naturelles; envers le Professeur Couvreur, qu'une mort prématurée a enlevé récemment à la Science et qui, en nous choisissant pour être son Assistant, nous a mis à même de parachever et d'approfondir nos connaissances physiologiques, et envers M. Ducloux, Direc-

teur de l'Elevage de la Régence de Tunis, qui, en nous faisant l'honneur de nous confier l'organisation d'un service dans les magnifiques laboratoires de l'Institut Arloing, dont il est le créateur, nous a ainsi procuré l'occasion d'élargir encore le cadre de notre activité scientifique, tout en faisant œuvre pratiquement utile.

M. le Doyen Depéret, en facilitant efficacement, par son bienveillant appui, nos débuts dans les études supérieures, s'est aussi acquis des titres particuliers à notre reconnaissance.

Nous associons également dans un même sentiment de gratitude, tous les Maîtres de l'Université de Lyon qui, par leur enseignement ou leurs conseils ont contribué à la formation de notre esprit scientifique.

## INTRODUCTION

On peut définir l'Immunité d'un être vivant envers une maladie, l'impossibilité pour cet être vivant de contracter cette maladie. Dans le cas des maladies parasitaires, le seul que nous envisagions, cela se ramène à l'impossibilité pour le parasite qui est la cause de la maladie, de se développer dans l'organisme de l'être vivant considéré.

On distingue deux sortes d'Immunités : *l'immunité naturelle* et *l'immunité acquise.*

L'immunité naturelle est un caractère d'espèce, héréditaire, préexistant à toute influence extérieure. Ainsi : l'Homme ne peut contracter la Peste bovine, ni le Charbon symptomatique, le Blé ne peut subir les atteintes du Mildiou de la Vigne ni de la Rouille du Maïs, etc.

L'immunité acquise, au contraire, est individuelle; elle apparaît, soit à la suite d'une première atteinte de la maladie (par exemple, chez l'Homme, Variole, Rougeole), soit à la suite d'un traitement préventif approprié (vaccination).

La Réceptivité est le contraire de l'Immunité. C'est la propriété que possède un être vivant de pouvoir

contracter une maladie déterminée. La réceptivité vis-à-vis d'une maladie est possédée en général par tous les individus d'une même espèce, sauf, bien entendu, ceux qui bénéficient de l'immunité acquise. Très fréquemment, plusieurs espèces, et souvent même de très nombreuses espèces plus ou moins éloignées dans la classification botanique ou zoologique, sont réceptives pour une même maladie, c'est-à-dire pour un même parasite. Les parasites qui peuvent ainsi se développer aux dépens de plusieurs espèces sont dits polyphages. Ceux pour lesquels une seule espèce est réceptive, tandis que toutes les autres sont immunes, sont dits monophages.

La réceptivité peut présenter plusieurs degrés, selon la facilité avec laquelle la maladie peut atteindre l'être envisagé. On parlera donc de forte, moyenne ou faible réceptivité. Une faible réceptivité est souvent qualifiée d'immunité relative, mais cette expression nous semble à rejeter, car il convient de réserver le terme « Immunité » à l'impossibilité absolue de contracter la maladie.

La réceptivité à une maladie peut d'ailleurs se limiter à un ou plusieurs organes. Ainsi, la Hernie du Chou n'atteint que les racines et, au contraire, le Mildiou de la Vigne n'attaque que les organes aériens du Végétal.

Les notions d'Immunité et de Réceptivité sont donc fondamentales en Pathologie, animale ou végétale. Mais tandis que le problème de l'Immunité chez les Animaux a fait l'objet d'un prodigieux effort d'expérimentation, fécond en résultats extrêmement impor-

tants, l'étude de l'Immunité chez les Végétaux est à peine ébauchée et nos connaissances sur ce sujet sont, aujourd'hui encore, excessivement minimes et incertaines.

Cette ignorance presque complète des mécanismes immunitaires des Végétaux constitue une grande lacune dans l'édifice de la Physiologie comparée. Et cependant, les maladies des plantes ont été observées de tout temps, ainsi que l'attestent les documents les plus anciens de l'Antiquité et les écrits des botanistes et des agronomes du Moyen Age. Mais on est resté dans la méconnaissance de leurs véritables causes jusqu'au début du XIX$^{e}$ siècle. C'est, en effet, à Bénédict Prévost que revient la gloire d'avoir établi en 1807, par des expériences rigoureuses, que la Carie du Blé et quelques autres maladies des plantes sont provoquées par le parasitisme de Champignons microscopiques.

Plus tard, les magnifiques travaux des frères Tulasne ainsi que ceux de Kühn, firent faire d'importants progrès à la connaissance des maladies des plantes. Enfin, en 1863, de Bary, dans un mémoire magistral, démontra irréfutablement que, dans les maladies appelées « Rouilles » le développement de Champignons dans les tissus atteints était la cause des troubles observées et non leur conséquence, comme beaucoup le croyaient encore.

Pendant que les botanistes, dès le début du XIX$^{e}$ siècle, découvraient ainsi les causes d'un grand nombre de maladies des plantes, on errait encore dans l'obscurité la plus complète en ce qui concerne l'étio-

logie des maladies infectieuses de l'Homme et des Animaux, et on en était réduit à incriminer des « miasmes » et des « contages » dont l'existence et la nature demeuraient entièrement hypothétiques.

Pourtant, Davaine et Rayer avaient, en 1850, observé dans le sang des animaux atteints de charbon, des bâtonnets particuliers qu'on ne trouvait jamais dans le sang des animaux normaux. Mais l'importance de cette observation fut méconnue, car les biologistes d'alors considéraient ces corpuscules comme un des effets et non comme la cause de la maladie.

Enfin, Pasteur parut; une ère nouvelle allait s'ouvrir pour la Pathologie. C'est, en effet, grâce aux travaux de Pasteur sur les maladies des Vers à Soie (1867) que le principe de l'origine parasitaire des maladies contagieuses des Animaux fut acquis. Tout le monde sait comment, à la suite de cette acquisition fondamentale, les recherches de Pasteur et de son école, sur les maladies infectieuses de l'Homme et des Animaux amenèrent successivement une série de découvertes d'une importance capitale : celles de l'atténuation des virus et de l'immunisation artificielle, celle des toxines microbiennes, etc.

Depuis ces découvertes qui ont révolutionné la médecine humaine et vétérinaire, d'innombrables travaux ont été effectués par les biologistes sur les phénomènes relatifs à l'immunité dans le règne animal. Par contre, on ne trouve que relativement peu de recherches expérimentales se rapportant à la connaissance des mécanismes de la défense des organismes végétaux contre les agents pathogènes. C'est ce

qui nous a incité à entreprendre nous-mêmes des recherches sur ce sujet trop délaissé. De plus, nous avons remarqué que les chercheurs qui nous ont précédé, n'envisageaient généralement qu'un côté de la question et ignoraient souvent une grande partie des travaux faits antérieurement sur le problème de l'Immunité chez les Végétaux. C'est pourquoi nous nous sommes efforcés d'établir une bibliographie aussi complète que possible, afin d'essayer d'avoir une vue d'ensemble des connaissances actuelles sur l'immunité en Phytopathologie.

Notre travail sera divisé de la manière suivante :

I. — Historique.

II. — Recherches sur l'Immunité naturelle des Végétaux contre les Mycoses.

III. — Recherches sur l'Immunité naturelle des Végétaux contre les Bactérioses.

IV. — Recherches sur l'Immunité acquise et l'Anaphylaxie chez les Végétaux.

V. — Considérations générales et Conclusions.

Nous ne pouvons naturellement avoir la prétention d'avoir traité à fond ce grand et redoutable problème de l'Immunité dans le Règne Végétal. Même en nous bornant, à l'exemple de nos devanciers, aux Végétaux supérieurs, la vie d'un homme n'y suffirait pas : cette question réclame encore les efforts de nombreux chercheurs. Nous avons seulement essayé d'y apporter une modeste contribution, et nous ne nous dissimulons nullement les lacunes de notre travail. Cependant, nous espérons avoir pu poser quelques

jalons dans cet immense domaine encore presque inexploré. Nous aurions ainsi la satisfaction d'avoir contribué pour notre faible part, à l'avènement d'une science qui est encore dans les limbes, l'Immunologie comparée, science qui rentre d'ailleurs dans le vaste cadre de la Pathologie comparée, qui n'est elle-même qu'une division de la Dynamique des Etres Vivants ou Physiologie générale et comparée.

## CHAPITRE PREMIER

# Historique

La notion d'Immunité des Plantes envers les maladies parasitaires n'a acquis quelque précision que vers la fin du siècle dernier. C'est surtout d'étroite spécificité du parasitisme des Urédinées qui a d'abord attiré l'attention des chercheurs. Aussi. les travaux relatifs à la Résistance des plantes envers les Rouilles sont-ils assez nombreux. Mais le parasitisme des Urédinées possède des caractères très particuliers : c'est une véritable association symbiotique. C'est pourquoi, dans l'impossibilité où nous nous trouvions, d'étudier au point de vue de l'Immunité tous les groupes de Champignons phytopathogènes, nous avons, malgré le haut intérêt qu'elles présentent, écarté les Urédinées du cadre de nos recherches. Cependant, comme nous pensons qu'il est essentiel de donner un tableau d'ensemble des connaissances actuelles sur le problème de l'Immunité dans le Rè-

gne végétal, nous consacrerons une partie de cet historique à résumer les travaux relatifs à la Résistance des plantes envers les Rouilles.

Nous allons d'abord passer en revue les recherches faites sur l'Immunité des végétaux envers des organismes pathogènes (Champignons et Bactéries) moins étroitement adaptés à la vie parasitaire, recherches qui sont en rapport plus direct avec les nôtres.

Dans ses « Leçons sur les Bactéries », de Bary (1) fait remarquer que « parfois, dans le choix qui est fait par le parasite, certaines espèces sont exclues, sans que nous puissions nous rendre compte des raisons de cet ostracisme » (nous dirions aujourd'hui, de cette immunité), et il en cite des exemples parmi les Champignons parasites des Végétaux.

En 1889, Kissling fait deux expériences au sujet du rôle joué par l'épaisseur de l'épiderme et la teneur en eau des plantes dans leur résistance envers le *Botrytis cinerea*. Ce sont, croyons-nous, les premières tentatives faites pour déterminer les facteurs de l'immunité. Kissling conclut qu'une plante riche en eau avec un épiderme mince oppose à la pénétration du Champignon la moindre résistance.

Behrens, au sujet de la pourriture des fruits se pose la question suivante : Pourquoi le *Penicillium glaucum* et le *Mucor stolonifer* n'attaquent-ils que des fruits juteux et non d'autres organes de plante, com-

(1) Tous les auteurs cités figurent dans l'Index bibliographique placé à la fin du volume, où ils sont classés par ordre alphabétique. Lorsqu'il convient de se référer particulièrement à un des ouvrages d'un auteur, cet ouvrage est désigné par un numéro placé entre parenthèses.

me c'est le cas du *Botrytis cinerea ?* Il estime que cela est dû à ce que, d'une part, les cellules des fruits n'ont qu'une faible résistance et que, d'autre part, les sécrétions du *Botrytis cinerea* sont plus toxiques que celles du *P. glaucum* et du *M. stolonifer.* Pour démontrer que les sécrétions du *B. cinerea* sont plus toxiques que celles du *P. glaucum,* il réalise l'expérience suivante : Deux ballons contenant un moût fermentescible sont respectivement ensemencés avec ces deux Champignons. On laisse ceux-ci se développer pendant quelques jours, puis on ensemence les ballons avec une levure. On constate alors que la multiplication de la levure se fait moins bien dans le ballon contenant le *Botrytis* que dans celui renfermant le *Penicillium.* Cette expérience concerne un cas trop particulier pour être vraiment démonstrative, nous semble-t-il.

Relativement à la question énoncée par Behrens, Nordhausen pense que le *P. glaucum* et le *M. stolonifer* étant peu toxiques, l'hôte a le temps de réagir par formation de liège de blessure, sauf s'il s'agit de fruits, dont les tissus sont dépourvus de pouvoir de régénération, et où, par suite, rien n'arrête la marche du parasite.

Emile Laurent (137) dans des recherches portant à la fois sur le *Sclerotinia Libertiana* et le *Phytophthora infestans* et sur deux Bactéries, qu'il identifie au *Bacillus fluorescens putridus* et au *Bacillus coli communis,* dirige spécialement son attention sur le rôle joué par la nourriture sur la prédisposition ou la résistance des plantes aux parasites, et dans ce but,

étudie expérimentalement l'action de divers engrais. Il trouve que la chaux, ainsi que les engrais potassiques et azotés, diminuent la résistance à la pourriture bactérienne, tandis que les phosphates l'accroissent, en élevant l'acidité du suc cellulaire. Par contre, ils augmentent la réceptivité pour le *Sclerotinia Libertiana.*

Dans les dernières années du XIX$^{e}$ siècle et à l'aube du XX$^{e}$, la question de l'Immunité chez les Végétaux commence à sortir du domaine des études strictement botaniques ou agronomiques. Plusieurs savants appartenant au monde médical aperçoivent la nécessité d'un rapprochement entre la Pathologie végétale et la Pathologie animale, dans l'intérêt commun des deux sciences et de la Biologie générale. C'est dans cet esprit que Ch. Bouchard, dans son Traité de Pathologie générale, fait insérer par Vuillemin un intéressant chapitre intitulé : « Considérations générales sur les maladies des Végétaux » et que Charrin esquisse un parallèle entre les deux pathologies et compare les procédés de défense dans les deux règnes. Selon lui, la structure des plantes s'opposant à la phagocytose, la résistance s'opère grâce aux obstacles mécaniques que les membranes présentent aux parasites et surtout grâce à l'action des sucs.

Metchnikoff, dans son traité de « L'Immunité dans les Maladies infectieuses » consacre aussi un chapitre à l'immunité chez les végétaux, où il fait surtout état des résultats de Laurent, c'est-à-dire qu'il voit dans la résistance la résultante d'influences chimiques. Il est assez curieux de constater que, déniant presque

toute importance à ces influences dans les phénomènes d'immunité chez les Animaux, pour attribuer le rôle prépondérant à la phagocytose, il les considère comme étant les seuls facteurs de l'immunité chez les Végétaux.

Parmi les phytopathologistes, nous voyons Sorauer se livrer à diverses reprises à des considérations théoriques sur l'Immunité et la Prédisposition. Il est ainsi amené à distinguer deux groupes dans les divers modes de prédisposition que les plantes peuvent présenter aux maladies : *les prédispositions normales* tenant à la seule influence de la variété, et les *prédispositions anormales*, dans lesquelles l'attaque parasitaire apparaît à la suite d'altérations antérieures. Mais il ne peut donner aucune explication quelque peu précise du mécanisme intime de la prédisposition et de l'immunité.

D'assez nombreux auteurs ont attribué au chimiotropisme un rôle capital dans les processus de la réceptivité et l'immunité des végétaux envers les maladies parasitaires. Il nous faut donc entrer dans quelques détails à ce sujet.

L'attraction du plasmode des Myxomycètes vers une solution nutritive placée dans le voisinage fut d'abord signalée par Stahl, qui appelait ce phénomène « trophotrophisme ». Mais ce fut surtout Pfeffer qui étudia beaucoup ces phénomènes d'attraction ou de répulsion causés par diverses substances et les nomma « chimiotropismes ». Les premières observations furent faites sur des hyphes de Saprolégniées et par la suite, étendues aux Bactéries, aux

Protozoaires, aux anthérozoïdes des Cryptogames, etc...

Cependant, Strange, expérimentant avec le *Saprolegnia ferax* et un *Penicillium*, constate seulement une croissance et une ramification plus abondante des hyphes du côté de la substance favorable. Les conidies en germant, envoient leurs filaments dans toutes les directions où se trouve une nourriture suffisante; les filaments ne montrent aucune courbure chimiotropique, mais seulement une croissance bien meilleure quand ils atteignent la zone de diffusion de la substance essayée.

Mais Reinhardt observe de nouveaux faits de chimiotropisme chez une *Peziza*, et Büsgen chez le *Botrytis cinerea*. Toutefois, ce dernier auteur pense que la pénétration du Champignon dans l'épiderme est amené par l'influence du contact, qui cause la formation de crampons et qu'il étudie tout spécialement.

Miyoshi fait une étude systématique du chimiotropisme chez divers Champignons, en employant un grand nombre de substances différentes. Il trouve que le *Botrytis cinerea* et le *Penicillium glaucum* peuvent perforer des membranes naturelles ou artificielles, si elles sont placées sur un substratum nutritif et qu'il n'y a pas de perforation si le Champignon est placé au-dessus de la membrane dans un milieu aussi nutritif que celui qui est en-dessous. Cette perforation a lieu, selon lui, par un processus plutôt mécanique que chimique : en effet, des feuilles d'or peuvent être perforées et il est difficile d'admettre que le Champi-

gnon sécrète des substances capables d'attaquer l'or. A l'aide d'un ingénieux dispositif, il évalue la pression exercée dans ce cas par les hyphes, à 1/10 d'atmosphère. Miyoshi suppose également que le chimiotropisme doit jouer un rôle important dans l'infection des plantes par les Champignons, tandis que Swingle, pour expliquer les effets de la bouillie bordelaise, émet l'hypothèse, basée sur les expériences précédentes, que l'hydroxyde de cuivre empêche les tubes germinatifs des Champignons parasites de pénétrer dans la plante-hôte, par une action chimiotropique négative.

Nordhausen étudie le rôle du chimiotropisme dans la pénétration des Champignons dans les tissus végétaux, sans toutefois apporter d'arguments nouveaux.

Clark, cherchant à vérifier l'hypothèse de Swingle, examine les réactions chimiotropiques de quelques Champignons, spécialement du *Mucor stolonifer*, envers les substances toxiques. Dans tous les cas, il trouve que les hyphes développées sur un milieu nutritif se dirigent vers des sels toxiques et y poussent jusqu'à ce qu'une concentration suffisante pour causer la mort soit atteinte. Les hyphes se dirigent aussi bien vers un milieu non nutritif ou vers de l'eau distillée que vers un milieu nutritif.

Pour Massee, le chimiotropisme est le facteur unique qui détermine l'état de réceptivité ou d'immunité chez les plantes. D'expériences faites avec des substances d'origine végétale, et des sucs végétaux, il conclut que l'entrée des tubes germinatifs d'un Champignon parasite dans les tissus d'une plante saine

dépend de la présence dans les cellules de l'hôte de quelque substance attractive pour le Champignon. En d'autres termes, l'infection est due au chimiotropisme positif. Par contre, une plante douée d'immunité est une plante chez laquelle la substance positivement chimiotropique est absente ou dont l'effet est annihilé par la présence d'une substance négativement chimiotropique.

Dans le cas des parasites facultatifs, les substances attractives en jeu seraient des composés banaux, tels que le saccharose, etc.; pour les parasites étroitement spécialisés, au contraire, la substance attractive serait une substance spécifiquement propre à la plante-hôte.

Cependant, il semble à Balls que Massee n'a pas suffisamment éliminé l'influence de l'hydrotropisme dans ses expériences. Balls pense que l'hydrotropisme peut suffire dans bien des cas à expliquer *l'inoculation* (c'est-à-dire la pénétration du filament mycélien à travers l'épiderme, soit par les stomates, soit par perforation de la cuticule), tandis que les phénomènes chimiotropiques seraient surtout en rapport avec *l'infection* (c'est-à-dire le développement du Champignon dans les tissus), tout en admettant qu'il peut être parfois possible que dans certains cas, l'hydrotropisme et le chimiotropisme coopèrent pour amener l'inoculation et que, dans d'autres cas, ces deux facteurs se contrarient.

La théorie de Massee fut bientôt critiquée par Marshall Ward (239) qui objecte avec raison que,

outre le fait que le chimiotropisme est aussi un facteur dans la vie saprophytique, la pénétration d'une hyphe dans un stomate n'est qu'un acte préliminaire qui n'indique pas nécessairement le parasitisme. De plus, Miss Gibson, dans son laboratoire, a constaté que les tubes germinatifs de presque toutes les Urédinées qu'elle essayait, pénétraient dans les stomates de plantes très différentes de leur hôte habituel et qu'elles étaient incapables de parasiter. Dans ce cas, le tube germinatif, une fois arrivé dans la chambre sous-stomatique, cesse de se développer et périt. Des faits analogues avaient d'ailleurs déjà été signalés par de Bary (82) dès l'origine de ses recherches sur les Champignons parasites.

Fulton conclut de ses expériences que les phénomènes de chimiotropisme sont faibles ou nuls chez les Champignons et sont le plus souvent annihilés par d'autres tropismes mieux marqués. Il lui semble que le chimiotropisme n'a pas le rôle qu'on a voulu lui attribuer dans les processus d'infection par les Champignons parasites; l'hydrotropisme pourrait favoriser l'inoculation; de même, le cytotropisme, dans le cas où les germes sont nombreux à la surface de l'hôte et se repoussent mutuellement. Mais, encore une fois, remarquons avec Maire (158) qu'inoculation n'est pas synonyme d'infection, et que, par conséquent, ces faits sont en somme, de peu d'importance au point de vue de la question de l'immunité.

Malgré les critiques, justifiées selon nous, qu'avaient subies les théories immunitaires basées sur le chimiotropisme, nous voyons encore en 1909 E. W.

Schmidt, puis Petri, reprendre l'étude de cette question.

Schmidt employait comme matériel d'expérience, un *Phyllosticta* parasite des feuilles du Poirier, et des petits sacs en collodion contenant des substances nutritives et placés à une petite distance d'un milieu gélatiné sur lequel était cultivé le Champignon. On voyait alors celui-ci se diriger vers le sac de collodion, former à sa surface des appressoriums et perforer la membrane pour pénétrer à l'intérieur : il y avait donc chimiotropisme positif. Ou bien, il mettait de l'eau distillée chargée de spores, sur la surface externe de la membrane de collodion : il constatait alors qu'après germination et un court développement à la surface, dû à la diffusion des substances nutritives, le Champignon pénétrait dans le petit sac; ceci était, d'après l'auteur ,la reproduction artificielle de l'infection dans les conditions naturelles.

Petri (187) expérimentant avec le *Sclerotinia Libertiana,* constate que plusieurs Graminées sont réfractaires à l'attaque de ce Champignon. Mais si à l'aide d'un dispositif spécial, ne lésant en rien la feuille vivante, on augmente le stimulus chimiotropique envers le mycélium du *Scl. Libertiana,* celui-ci pénètre dans la feuille précédemment réfractaire, et y provoque les lésions caractéristiques bien connues. Petri conclut que l'immunité naturelle d'une plante contre l'organisme parasite repose surtout sur l'insuffisante quantité dans les tissus de la plante de substances capables d'exercer un stimulus chimiotropique positif sur le Champignon. A un minimum de stimu-

lus chimiotropique correspond une plus faible sécrétion de l'enzyme cytolytique élaborée par le parasite, fait qui favorise énormément l'action antienzymatique que possède le suc de certaines plantes. Chez les plantes qui, possédant un minimum d'action stimulante, manquent complètement de pouvoir antienzymatique, l'immunité naturelle peut facilement cesser suivant les conditions de milieu et de culture. On peut dire de même pour le cas inverse.

Les divers degrés de cette propriété, qui détermitent l'immunité absolue ou le manque de toute résistance, peuvent être représentés par les symboles suivants :

$\frac{N}{S} > I$ Immunité.

$\frac{N}{S} \leqslant I$ Immunité relative ou Réceptivité

où N représente l'action antienzymatique et S le stimulus chimiotropique positif.

Avec les travaux de Noël Bernard (23-24) publiés en cette même année 1909, l'attention va être attirée sur un facteur de l'immunité, nouveau en pathologie végétale, la phagocytose.

A vrai dire, des phénomènes de phagocytose avaient été observés chez les plantes bien avant qu'ils ne fussent découverts par Metchnikoff (167) chez les animaux, mais on avait longtemps méconnu totalement leur signification. Sans parler des Myxomycètes, qui sont en somme d'énormes phagocytes, lorsqu'ils sont à l'état de plasmode, ou de myxamibes

isolés, mais qui ont été longtemps classés dans le règne animal (Mycétozoaires de De Bary), on avait remarqué dans les cellules des plantes supérieures, des apparences qui n'étaient autre chose que le résultat de phénomènes phagocytaires. Les anciens observateurs, Irmisch, Fabre, Prillieux, Link, étaient, en effet, unanimes à signaler dans les racines et les plantules d'Orchidées, des cellules contenant des masses pâteuses brunâtres qu'ils qualifiaient de « cellules à bassorine ». Plus tard, Wahrlich reconnut qu'il s'agissait de corps de dégénérescence provenant de filaments fongiques et Magnus mit nettement en évidence, chez la *Neottia Nidus-avis*, deux catégories de cellules infestées : les unes avec des Champignons bien vivants, les autres avec des masses fongiques en voie de destruction.

Les recherches de Schlicht, Janse, Dangeard et Armand, Mac Dougal, Chodat, Shibata, Petri (186), Gallaud, Noël Bernard et Burgeff précisèrent la connaissance de ces phénomènes de digestion intracellulaire de filaments mycéliens non seulement chez les Orchidées, mais chez des plantes très diverses, possédant ces racines infestées de Champignons, qui ont été appelées « mycorhizes ». Gallaud, le premier, qualifia très justement ces phénomènes, de « phagocytose sur place ». De ces travaux, il résulte que, lorsque commence le processus de phagocytose, le noyau cellulaire grossit, devient parfois très volumineux, se déforme à la manière d'une amibe, émet des sortes de pseudopodes venant attaquer le peloton mycélien. Cette déformation des noyaux rappelle celle observée

chez les leucocytes dits « polynucléaires » chez les Animaux. Parfois le réseau chromatique se fragmente, les nucléoles se multiplient. Plus tard le noyau, ayant accompli victorieusement sa fonction défensive, reprend sa forme arrondie, reconstitue son réseau chromatique et revient à son volume normal.

Les Bactéries qui infestent normalement les racines des Légumineuses et y causent la formation de nodosités sont aussi l'objet de phénomènes qui peuvent être assimilés à la phagocytose. M. Beauverie (16, $18^4$ et $18^5$), et Zach considèrent également que, dans le cas de céréales infestées par la Rouille, se produisent des faits de phagocytose, qui, mal interprétés par Eriksson, l'ont conduit à édifier sa fameuse théorie du mycoplasma.

Magrou (153) a étudié en détail la phagocytose des endophytes symbiotiques de diverses plantes (*Solanum tuberosum, Orobus coccineus et tuberosus, Mercurialis annua et perennis*) et Müller aurait également constaté la phagocytose des hyphes du *Rhizoctonia Solani.*

On voit que la phagocytose a été principalement observée dans des cas où les organismes envahisseurs ne paraissent pas nuisibles ou semblent même utiles au végétal qui les héberge, cas que l'on dénomme habituellement « Symbioses ». On a souvent séparé ces cas de symbiose des cas de maladie. Mais Noël Bernard et, à sa suite, Magrou, estiment à juste titre qu'il ne s'agit là que de questions de degré et que « la Symbiose est manifestement à la frontière de la maladie ». C'est un état d'équilibre intermédiaire

entre la maladie passagère dont la plante guérit après une réaction efficace et la maladie mortelle où le parasite ne rencontrant pas une résistance suffisante s'étend indéfiniment jusqu'à ce que la plante périsse.

La phagocytose chez les plantes ne peut naturellement s'exercer que contre des microorganismes intracellulaires et en outre, assez peu nocifs, s'introduisant dans la cellule sans la détruire d'emblée; c'est ce qui explique pourquoi on la constate principalement dans des cas de symbiose. L'existence de ce phénomene chez les Végétaux est un fait de haut intérêt biologique et une utile indication pour les recherches ultérieures des phytopathologistes. On est trop accoutumé, au sujet de la phagocytose, à penser uniquement aux leucocytes amiboïdes des Animaux. Cependant, chez ceux-ci aussi on trouve des « organes phagocytaires » exerçant une destruction sur place des germes morbides. C'est une conception trop étroite de la phagocytose qui a amené Delacroix à écrire : « Une telle propriété est absente de la plante et il ne semble pas qu'on puisse la concilier avec l'idée d'un protoplasme entouré d'une membrane rigide. » Il ajoute, il est vrai : « Tout au plus pourrait-on supposer que ce sont les inclusions vivantes du protoplasme végétal, les leucites et leurs diverses variétés qui la puissent posséder. » Il conclut : « Or, rien de tel n'a jamais été observé. » Cette phrase montre que Delacroix, uniquement préoccupé de l'étude des organismes pathogènes proprements dits, ignorait les travaux de physiologie symbiotique que nous venons

d'énumérer et qui établissent que la fonction phagocytaire existe chez les Végétaux et est remplie par le noyau cellulaire.

Pour bien étudier la question de l'Immunité, il est nécessaire de connaître le mécanisme de l'attaque des parasites, l'Immunité ou la Réceptivité n'étant que la résultante, favorable ou défavorable pour la plante-hôte, du conflit entre les moyens d'attaque du parasite et les moyens de défense de l'hôte. C'est dans ce but, qu'à partir de 1915, un groupe d'auteurs anglais (Brown, Blackmann et Welsford, Boyle), publie dans les « Annals of Botany », une série de très intéressantes recherches, réunies sous le titre générique de « Studies in the Physiology of Parasitism », qui, sans toucher au fond même de la question de l'Immunité, jettent d'utiles clartés sur le mécanisme du parasitisme et les rapports existant entre les Champignons parasites et les plantes attaquées.

Plus récemment encore, M. le Professeur Beauverie a ouvert des horizons nouveaux sur ce sujet, en établissant que les mitochondries et les plastes, facteurs essentiels de la vie de la cellule, sont fragilisés par la présence d'un Champignon parasite, mais que leur résistance peut être variable d'une plante à l'autre.

Les recherches de M. Beauverie (17, 18), quoique susceptibles d'être largement généralisées, ont eu pour objets des Champignons appartenant au grand groupe des Urédinées. Ceci nous amène à exposer l'historique des travaux relatifs à l'Immunité des Végétaux envers les Rouilles.

Une des premières théories émises pour expliquer les faits d'Immunité envers les Rouilles, fut la théorie mécanique, proposée par Cobb, puis par Farrer : des caractères morphologiques et anatomiques, tels que l'épaisseur de la cuticule ou de l'épiderme, le petit nombre ou l'étroitesse des stomates, la présence de poils, etc., constitueraient d'importants facteurs de résistance à la pénétration du parasite.

Mais Eriksson et Hennings, Marshall Ward (238), Miss Gibson, montrèrent bientôt que les caractères anatomiques et les actions mécaniques ne jouent qu'un rôle absolument secondaire dans l'immunité : en effet, le tube germinatif des urédospores pénètre à travers les ostioles des stomates de plantes immunes, dans les tissus desquelles il ne tarde pas à périr.

De ces constatations, Ward conclut que les causes de l'immunité ne sont pas, dans la grande majorité des cas, d'ordre anatomique, mais d'ordre physiologique. La Réceptivité ou l'Immunité dépendent, selon lui, du pouvoir qu'a le protoplasme du parasite de surmonter la résistance de l'hôte par des enzymes ou des toxines, et réciproquement, du pouvoir qu'a le protoplasme de l'hôte de former des anticorps ou encore du pouvoir que possède ce dernier de sécréter des corps positivement ou négativement chimiotropiques pour le parasite.

Biffen pense également que la résistance et la réceptivité sont tout à fait indépendantes des particularités anatomiques, car, de deux plantes semblables dans tous leurs détails anatomiques, l'une peut être résistante et l'autre susceptible.

Hursh (115) estime, d'ailleurs, que la résistance n'est pas uniquement assurée par des facteurs morphologiques et mécaniques, mais surtout par des propriétés fondamentales du protoplasme.

Une autre théorie a été développée par Comes. D'après cet auteur, la résistance et la réceptivité sont conditionnées par la présence dans les plantes de substances chimiquement définies. Les acides libres, la potasse, la chaux, le fer et la magnésie seraient des facteurs de résistance; les sucres et les composés amidés, des facteurs de réceptivité. On peut rapprocher cette théorie des vues de Laurent.

Kirchner conclut aussi que l'acidité confère la résistance envers le *Puccinia glumarum;* Scurti et Sicca trouvent que, entre la Résistivité et l'acidité de l'hôte, il y a une certaine relation, mais non une corrélation complète; Butler admet aussi des relations entre l'acidité et la résistance aux attaques des Champignons. Mais les résultats de plusieurs autres expérimentateurs, Arrhenius, Hursh (115), Bygden, ne cadrent nullement avec les théories de Comes.

Vavilov ne pense pas non plus que l'immunité soit sous la dépendance de l'acidité du suc cellulaire, du pigment anthocyanique et d'autres composés banaux et Pantanelli (183) par une critique serrée des faits acquis, montre que les facteurs de l'immunité sont beaucoup plus complexes et difficiles à définir que ne l'admet Comes, ce qui se conçoit facilement, si l'on se représente l'immense quantité de cas d'immunité résultant du grand nombre d'espèces d'Urédinées et leur étroite spécificité.

Récemment encore, les travaux de Miss Annie Hurd établissent qu'aucune relation n'existe entre l'acidité (ou plus exactement, la concentration en ions H) et la résistance des Blés à la Rouille jaune.

L'influence de la concentration osmotique sur les phénomènes immunitaires, a éte examinée par plusieurs auteurs. Hursh (115), Pantanelli (183), Tischler, mais leur conclusion est qu'elle n'y joue aucun rôle.

Les hypothèses d'après lesquelles l'immunité des plantes résistantes envers les Rouilles serait due au fait que le Champignon ne trouve pas dans son hôte, de substances nutritives qu'il soit capable d'assimiler et qui au contraire considèrent que les plantes sensibles sont telles, parce qu'elles renferment ces substances, dont la configuration chimique serait strictement adaptée aux exigences de chaque parasite différent, reposent sur une base plus sérieuse. Ce fut Marshall Ward qui, le premier, émit cette idée, mais ses travaux et ceux de Fromme, Mains, Henning, Kirchner, Tischler, n'en donnent aucune démonstration nette. Cependant, récemment encore, Leach se rallie à cette hypothèse : « Toute forme biologique de Rouille a ses exigences spécifiques, au point de vue nourriture, qui sont conformes à la configuration moléculaire de son protoplasme. Cette nourriture, qui est à son tour, spécifiquement en relation avec le protoplasme qui la produit, ne se rencontre que dans un nombre limité d'espèces hôtes. Lorsqu'une forme biologique déterminée de Rouille envahit une plante qui ne contient pas cette nourriture spécifi-

que, le Champignon meurt d'inanition, en sécrétant une enzyme qui est toxique pour les cellules avec lesquelles il est en contact. »

Miss Ruth F. Allen a fait de soigneuses études cytologiques sur l'infection de deux Blés, l'un sensible et l'autre réfractaire au *Puccinia graminis tritici*. Dans le cas de la variété sensible, une association harmonique s'établit de suite entre l'hôte et le Champignon. Dans le cas de la variété immune, le Champignon, une fois introduit à travers l'ostiole, tue la cellule dans laquelle il envoie son premier suçoir. Mais une substance formée dans cette cellule-hôte tue à son tour le suçoir et, par diffusion, l'hyphe à une certaine distance en arrière. Ces faits sont en faveur des théories qui supposent que l'immunité chez les plantes est due à des actions antagonistes entre l'hôte et le parasite, analogues à celles exercées par les toxines et antitoxines spécifiques chez les Animaux. Cette hypothèse paraît d'ailleurs s'imposer non seulement à Marshall Ward (237, 239), qui fut en l'occurence un véritable précurseur, mais aussi à Marryat, Miss Gibson, Orton, Stakman et Miss Allen. Cependant, jusqu'à présent, de telles substances n'ont pu être mises directement en évidence dans le cas des Rouilles. Galloway, qui a cherché les toxines sécrétées par une Rouille du Pin et Leach, qui a essayé d'extraire un suc sporicide de feuilles de Blés réfractaires ou de Blés infectés, ont échoué dans leurs tentatives.

Le travail le plus récent sur l'Immunité envers les Rouilles est dû à Kharbush, qui a étudié les Blés pa-

rasités par le *Puccinia glumarum*. D'après ses recherches, « ce qui explique l'inégale résistance des diverses espèces du même genre, des diverses variétés d'une même espèce, voire même des divers individus d'une même variété, c'est le fait qu'une rouille ne trouve pas, préexistant dans l'hôte qu'elle va infester, le milieu qui est nécessaire à son développement, mais que, pour évoluer, elle doit provoquer chez son hôte précisément des modifications cellulaires qui assureront sa nutrition et que, dans chaque Blé, les chloroplastes réagissent différemment à l'infection de Rouilles, que l'immunité est la conséquence d'une histolyse rapide des plastes. d'une fonte graisseuse généralisée; la réceptivité au contraire est marquée par une longue suractivité des plastes *sécrétant*, dans les cellules envahies, les substances graisseuses dont le mycélium s'alimente à mesure. » Kharbush n'exclut cependant pas la possibilité de l'intervention d'autres facteurs dans ce conflit, par exemple, la phagocytose et l'élaboration de substances nuisibles au parasite.

Dans les pages qui précèdent, nous venons de résumer brièvement les travaux qui ont été publiés au sujet de l'Immunité envers les Rouilles. Nous devons maintenant exposer les résultats des recherches qui ont été faites sur une question qui est en étroit rapport avec la connaissance du mécanisme intime de l'Immunité chez les Végétaux. C'est la question de l'existence chez ceux-ci d'anticorps analogues à ceux des Animaux.

Rappelons tout d'abord que chez ces derniers, on

distingue ordinairement les anticorps normaux, c'est-à-dire préexistant à toute introduction de l'antigène dans l'organisme, et les anticorps acquis, qui n'apparaissent qu'après l'introduction d'un antigène.

Ces deux catégories d'anticorps ont été signalés chez les Végétaux par divers auteurs.

Dès 1906, Schiff-Giorgini relatait que, chez l'Olivier, le suc des tissus voisins de la tumeur que produit sur cet arbre le *Bacillus oleæ* possède des propriétés agglutinantes et lytiques vis-à-vis de ce bacille, tandis que les tissus normaux en sont dépourvus.

Noël Bernard compare le pelotonnement des filaments mycéliens de l'endophyte des Orchidées à l'intérieur des cellules des racines, à l'agglutination des Bactéries par les humeurs des Animaux.

Plus tard, il découvre dans les tubercules des Ophrydées, de remarquables phénomènes qu'il rapproche de l'Immunité humorale des Animaux. Nous aurons l'occasion plus loin, d'exposer en détail le résultat de ses expériences fondamentales. Pour éviter des redites, nous nous contentons de les signaler ici, sans insister plus longuement.

Différents auteurs ont signalé, chez les Végétaux, des substances qu'ils considèrent à plus ou moins juste titre, comme étant des anticorps. Ainsi, Eisler et Portheim ont constaté l'existence d'hémoagglutinines dans des Végétaux, notamment dans le latex d'Euphorbes. Ces substances, qui seraient des anticorps normaux, n'ont en tout cas qu'un rapport indirect avec la question de l'Immunité des plantes envers les maladies parasitaires.

Krituhewsky a trouvé que le suc d'une Crassulacée, le *Cotyledon Scheideckerii* contient normalement des substances agglutinant le *Bacterium typhi* et le *Vibrio choleræ*, et précipitant le sérum de cheval et les extraits des deux microbes expérimentés. Mais ces substances diffèrent profondément des véritables agglutinines et précipitines, par leur forte thermostabilité (jusqu'à 140°), leur résistance à l'action de la pepsine et de la trypsine, leur manque de spécificité, et aussi parce que l'injection préalable des bactéries ou du sérum n'augmente pas le pouvoir précipitant ou agglutinant.

Par contre, des anticorps acquis spécifiques (agglutinines et lysines) auraient été trouvés par Wagner expérimentant sur *Solanum tuberosum* et *Sempervivum Hausmanii*, avec *Bacillus mesentericus vulgatus*, *B. putidum* et *B. asterosporus* comme antigènes. Ces anticorps sont labiles; le chauffage à 60° pendant 15 minutes, ou à 45° pendant 2 heures, l'action de la lumière, des oxydases, etc., les détruisent. Wagner n'a pu en mettre en évidence dans *Beta vulgaris*.

Picado (188), employant comme matériel d'expérience des cladodes d'*Opuntia*, ne peut obtenir d'hémolysine par injections d'hématies de Lapin, ni d'anticorps quelconques par injections de Levures. Mais, en choisissant comme antigènes du pollen de Maïs et de quelques autres plantes, il put constater très nettement l'apparition dans le suc de l'*Opuntia*, d'agglutinines et de cytolysines (pollenolysines) thermolabiles et douées d'une spécificité de groupe. Il put même constater que les propriétés cytolytiques, dé-

truites par le chauffage à 45°, réapparaissent par l'addition de jus de plante neuve qui joue le rôle d'une alexine.

Dans ces dernières années, un groupe d'auteurs italiens, de l'Institut Sérothérapique milanais, a publié d'assez nombreux travaux sur le problème qui nous occupe en ce moment. Vigliano, utilisant les *Bacillus mesentericus vulgatus, B. asterosporus, B. aterrimus,* ainsi que les Bacilles typhique, paratyphiques A et B, ceux du choléra et de la fièvre de Malte, constate que de nombreux sucs végétaux possèdent normalement des propriétés agglutinantes, ainsi que des propriétés hémolysantes et précipitantes pour le sérum de Cheval. Certaines sont coctostabiles; mais le travail de cet auteur ne dit rien au sujet de leur spécificité.

Carbone (53) n'a pas réussi à reproduire les expériences de Picado. Par contre, seul ou en collaboration avec Arnaudi, il trouve des bactério-agglutinines dans l'extrait aqueux des feuilles de Laurier-Cerise, dans la sève libérienne du Mûrier et du Saule. La substance agglutinante du Laurier-Cerise est éliminée par filtration sur amiante et est coctolabile. En outre, de même que celle de la sève élaborée du Mûrier, elle ne se trouve pas constamment et cette diversité de comportement est indépendante du pH. De plus, les agglutinines observées dans le suc ou la sève de la même espèce de plante, agissent sur quelques-unes des espèces microbiennes expérimentées et non sur les autres, mais, chose curieuse, d'une fois à l'autre, l'agglutination s'exerce sur des espèces différentes.

L'inoculation de Bactéries, vivantes ou mortes, ne provoque pas la formation des agglutinines correspondantes dans les tubercules de Pomme de terre, les feuilles de Laurier-Cerise, la sève de Mûrier.

En ce qui concerne les substances précipitantes pour les sérums, les hémolysines, les hémoagglutinines, ces auteurs arrivent à des conclusions analogues: de telles substances ont été rencontrées dans le suc ou la sève de plusieurs plantes, mais de façon parfois inconstante. Elles sont souvent thermolabiles. Mais par injection de sérum ou d'hématies, on ne parvient pas à obtenir la production d'anticorps spécifiques.

Essayant alors une autre méthode, Carbone et França ont nourri des plantes carnivores (*Drosophyllum lusitanicum* Link) avec des hématies de Mouton et des bacilles typhiques. Ils n'ont pu constater la présence d'hémolysine, ni d'agglutinine dans l'extrait chloruro-sodique des feuilles des plantes ainsi traitées.

Korinek n'a pas non plus réussi à provoquer la formation d'agglutinines spécifiques par inoculation de *Bacillus coli communis* à des Euphorbes et de *Bacterium tumefaciens* à des Betteraves. Il n'est pas plus heureux en recherchant des agglutinines contre le *Bacillus radicicola*, dans les nodosités des Légumineuses. Malgré cela, il pense qu'il y a peut-être tout de même des substances agglutinantes dans ces nodosités, en se basant sur l'aspect des Bactéries dans celles-ci lorsque la plante cherche à s'en débarrasser. D'une manière générale, il ne croit pas à l'existence d'anticorps complexes chez les Végétaux.

Il incline à penser que l'action de substances chimiquement définies est suffisante pour expliquer l'immunité et s'appuie, en ce qui concerne les Légumineuses, sur les expériences de Barthel et Zipfel, qui ont montré qu'on peut provoquer artificiellement la transformation du *B. radicicola* en bactéroïdes par l'action de quelques alcaloïdes.

Doussain n'est également arrivé qu'à des résultats négatifs : le suc de bulbes d'Oignon inoculés cinq fois, à cinq jours d'intervalle, avec des cultures de Bacilles paratyphiques A et B, ne possède pas de propriétés agglutinantes ou bactéricides sur les cultures des antigènes correspondants.

Nous avons déjà cité les tentatives infructueuses de Leach pour déceler l'existence d'anticorps normaux dans les feuilles de Blés réfractaires au *Puccinia graminis tritici-compacti*, ou d'anticorps acquis dans les feuilles de Blés porteurs de sores de ce parasite.

Mais d'importants résultats positifs ont été obtenus dernièrement par Cappelletti, opérant avec les nodosités de quelques Légumineuses (*Pisum sativum*, *Vicia Faba*, *Lathyrus odoratus*) et leur endophyte, le *Bacillus radicicola*. Le suc extrait par pression des nodosités fait preuve de propriétés agglutinantes très nettes vis-à-vis de cultures de ce Bacille. Ces agglutinines sont thermolabiles (détruites par chauffage à 80° pendant une demi-heure) et spécifiques, car d'autres microbes, ou bien ne sont pas agglutinés, ou bien sont agglutinés indifféremment par le suc des nodosités et par divers autres sucs végétaux. Elles n'existent pas en dehors des tissus envahis, de

sorte qu'on ne peut les déceler ni dans les portions de racine non infectées, ni dans la tige, ni dans les feuilles de la Légumineuse. De plus, elles n'apparaissent que pendant une certaine période de l'évolution de la plante, avant les processus de bactériolyse, fait qui est susceptible d'expliquer l'échec des tentatives de Korinek pour les mettre en évidence.

Nous voyons donc que, parmi les anticorps dont l'existence a été recherchée dans les sucs végétaux, ce sont les agglutinines qui ont donné lieu à la majorité des travaux. Cependant, leur étude, ainsi que celle des précipitines, est rendue très difficile par le fait que les sucs extraits des végétaux ont généralement tendance à précipiter spontanément, plus ou moins rapidement, symptôme de leur instabilité chimique et colloïdale.

Les précipitines et les agglutinines sont d'intéressants indices de réaction de la part de l'organisme qui les produit, mais ces anticorps ne jouent pas de rôle dans la résistance aux maladies. L'étude des hémolysines chez les Végétaux, s'éloigne encore bien davantage de la question de l'Immunité. Au contraire, celle des bactériolysines et des mycolysines s'y rapporte directement. En ce qui concerne les premières, nous n'avons que les expériences de Schiff-Giorgini et de Wagner, positives, et celles de Doussain, négatives. En ce qui concerne les secondes, nous avons les importants résultats positifs de Noël Bernard.

La possibilité de provoquer l'apparition d'antitoxines dans les sucs végétaux n'a été recherchée par

aucun des auteurs qui nous ont précédé. Cependant, puisque les parasites agissent principalement par leurs sécrétions, la question de savoir si les plantes-hôtes peuvent neutraliser l'action de celles-ci, est de la plus haute importance. Dans cet ordre d'idées, Brown (41) a bien tenté de se rendre compte s'il y avait un parallélisme quelconque entre l'effet de divers sucs végétaux sur la pectinase du *Botrytis cinerea* et la plus ou moins grande sensibilité des plantes envers ce Champignon, mais les résultats auxquels il arrive sont confus et le parallélisme cherché n'y apparaît pas. En tout cas, il ne s'agissait pas, dans ses expériences, d'anticorps acquis, d'antitoxines véritables, puisqu'il opérait avec le suc de plantes n'ayant subi aucune inoculation.

### Immunité acquise

Un certain nombre d'auteurs ne se sont pas contentés de rechercher les causes et d'étudier les mécanismes de l'Immunité naturelle. S'inspirant des résultats obtenus en pathologie animale, ils ont essayé d'obtenir une immunisation artificielle des Végétaux vis-à-vis des maladies parasitaires. Les tentatives faites dans cette direction se divisent en deux catégories : les unes se rapprochant de la médication désignée sous le nom de chimiothérapie, essayent d'utiliser les propriétés parasiticides de composés définis : c'est ce que nous appellerons l'*immunisation chimique;* les autres s'inspirant des méthodes de vaccination employées avec tant de succès en zoopathologie, utilisent soit des substances produites

par les organismes pathogènes, soit ces organismes eux-mêmes, atténués, et c'est alors ce que nous appellerons l'*immunisation biologique*.

Dans les essais d'immunisation chimique, viennent se ranger les expériences de E. Laurent, de Marchal, de Studiati et Pichi (cités par Berlese) et d'Eriksson et Hammerlund.

Laurent (138) cultivait des Pommes de terre en pots dont la terre était additionnée de 1 pour 1.000 de sulfate de cuivre. Le développement fut normal. Un tubercule produit par ces plantes fut contaminé, en appliquant sur une plaie une feuille portant des conidiophores de *Phytophtora infestans*. Ce tubercule fut attaqué, mais moins fortement qu'un tubercule témoin récolté dans de la terre sans sulfate de cuivre. La conservation des tubercules provenant de terre sulfatée fut meilleure que la conservation des tubercules récoltés en terre ordinaire : 80 % restèrent sains au lieu de 20 %.

Marchal tentait d'immuniser des Laitues contre la maladie du « Meunier », causé par le *Bremia Lactucæ* en les cultivant dans du liquide de Sachs additionné de sulfate de cuivre. La végétation n'était normale que tant que le sulfate de cuivre ne dépassait pas la dose de 4 à 5 pour 10.000 et l'immunité n'était obtenue qu'avec des doses de 7 à 10 pour 10.000.

Studiati et Pichi essayèrent des injections de sulfate de fer dans des pieds de Vigne comme traitement préventif du *Plasmopara viticola*. Ils n'obtinrent que des résultats négatifs.

Eriksson et Hammerlund, par des arrosages de

Roses Trémières avec des solutions de sulfate de cuivre à des titres variant de 1 à 5 % et même quelquefois 10 %, arrivèrent à affaiblir ou même arrêter la vitalité du *Puccinia Malvacearum* vivant à l'état latent à l'intérieur de la plante.

En somme, les essais d'immunisation chimique n'ont donné jusqu'ici que des résultats médiocres. En s'engageant dans la voie de l'immunisation biologique, M. Beauverie (15) a instauré une méthode plus féconde. D'après ses recherches (13, 14) le Champignon causant la maladie appelée « Toile » par les horticulteurs et qui ravage si fréquemment les semis et les boutures en serre, est une race stérile du *Botrytis cinerea*. Or, par l'action combinée d'une température de 15° à 18° et d'une atmosphère très humide, il obtint, en ensemençant sur terre stérilisée la forme conidienne du Champignon, une forme de transition entre la « Toile » et cette forme conidienne. La terre ainsi infectée par cette « Toile » atténuée était ensuite utilisée comme substratum pour des boutures de *Begonia*. Celles-ci n'étaient pas sensiblement affectées par sa présence et se montraient ensuite réfractaires aux attaques de la « Toile » virulente.

Ray (197) relate également avoir obtenu des résultats positifs d'immunisation contre la maladie causée chez diverses plantes par le *Bacillus putrefaciens* en les traitant préventivement soit par inoculations de cultures atténuées, soit par injections des toxines sécrétées par le microbe.

Peu après, en étudiant les nodosités des racines des Légumineuses, Hiltner et Störmer constatent que des

racines infectées par une souche de *Bacillus radicicola* très virulente, sont réfractaires à l'inoculation d'une souche moins virulente. C'est l'inverse de ce qui se produit dans les expériences de Ray, mais ce n'en est pas moins un indice certain d'une réaction immunitaire de la part de la plante.

Erwin Smith (214), après avoir inoculé à plusieurs reprises des Chrysanthèmes avec le *Bacterium tumefaciens*, et obtenu la production subséquente de tumeurs, constata que des inoculations sur des tissus en voie de croissance active de ces mêmes plantes, étaient sans effets, comme si les plantes étaient vaccinées. Mais il reconnaît par la suite, qu'au moins une partie de cette immunité était due à la diminution de virulence de la Bactérie utilisée, car, en employant des souches récemment isolées, les tumeurs se produisaient.

Il arriva à des résultats analogues avec le *Bacillus Savastanoi* (= *B. oleæ*) de la Tuberculose de l'Olivier, et il finit par conclure que ces faits sont comparables à ceux constatés par Hiltner et Störmer.

Au cours de ses expériences sur la germination des graines d'Orchidées au moyen de l'infection par les Champignons endophytes, Noël Bernard remarqua aussi qu'une première attaque par un Rhizoctone atténué, et par conséquent incapable de déclancher les processus de germination, rend la graine réfractaire à une inoculation ultérieure avec un Champignon actif, et il compare ce phénomène à la vaccination des Animaux.

En étudiant la maladie causée chez l'*Euphorbia*

*Cyparissias* par l'*Uromyces Pisi,* Tischler constate un exemple d'immunité acquise. Le mycélium du parasite hiverne dans les rhizomes de l'Euphorbe et, dans les conditions habituelles, envahit la tige aérienne au fur et à mesure de son développement, en y produisant les modifications caractéristiques bien connues. Or, le mycélium, intercellulaire, n'envoie des suçoirs dans les cellules que lorsque celles-ci ont franchi le stade embryonnaire et commencent à former des vacuoles. Si on soumet la plante, avant la formation des suçoirs, à l'action simultanée de la chaleur et de l'humidité, la tige se débarrasse du parasite, par un mécanisme d'ailleurs inconnu, et le point végétatif, ainsi guéri, produit désormais des feuilles normales que le mycélium venant du rhizome ne peut plus infecter.

Récemment, Zoja a réussi, par des méthodes renouvelées de celles employées par Beauverie et par Ray, à immuniser des plantules de Blé contre l'*Helminthosporium sativum* en faisant effectuer la germination sur un extrait aqueux de culture de ce Champignon ou de plante envahie par celui-ci. La substance immunisante est thermostabile (une heure à 55°), mais coctolabile. Les plantes immunisées n'ont pas perdu l'attraction chimiotropique vis-à-vis du Champignon et la germination des spores de celui-ci n'est pas empêchée par les extraits aqueux employés, ce qui prouve que l'immunité acquise par les plantes traitées est une véritable réaction de défense active. Cette immunité dure au moins un mois.

D'autres faits se rapportant à la vaccination des

plantes ont également été publiés récemment. D'après Hursh (116), des plantes coupées, plongées par la base dans des filtrats de culture de Champignons phytopathogènes, se flétrissent; retirées du filtrat et mises dans de l'eau pure, elles se rétablissent, et mises de nouveau dans le filtrat toxique, elles se flétrissent beaucoup plus lentement ou même pas du tout.

Arnaudi (6) a observé que des tranches de Pomme de terre préalablement trempées dans des cultures atténuées (par vieillissement ou addition d'acide lactique) d'un Bacille du groupe *mesentericus*, ne sont que peu ou pas attaquées par la souche virulente mise ultérieurement au contact des tubercules, tandis que la même souche attaque vigoureusement des tranches témoins.

Le même auteur a en outre constaté que des rameaux de *Pelargonium zonale* portant des tumeurs dues au *Bacterium tumefaciens*, ne sont pas réceptifs pour une nouvelle inoculation pratiquée à quelques centimètres au-dessus de la tumeur, avec une souche de bacilles dont la virulence est démontrée par inoculation simultanée sur plante normale. Remarquons toutefois que ce résultat est en opposition avec les conclusions finales des études de E.-F. Smith sur ce sujet.

Non content d'avoir ainsi vacciné des plantes contre le *B. tumefaciens*, Arnaudi aurait réussi un traitement curatif du Cancer végétal. En trempant deux rameaux de Géranium, pourvus chacun d'une tumeur, dans de l'eau additionnée de sérum de Lapin inoculé avec le *B. tumefaciens*, il aurait obtenu une régression très rapide de ces tumeurs.

Pour être complet, dans notre exposé des travaux se rapportant à l'Immunité chez les Végétaux, nous devons donner un aperçu des récentes expériences de Lutz. Cet auteur a recherché les causes de la spécificité de plusieurs Hyménomycètes épiphytes, principalement lignicoles (divers *Stereum, Polyporus* et *Corticium* et, en outre, *Pleurotus Eryngii* et *nebrodensis*). Il constate que ces Champignons ne peuvent pousser sur des échantillons de plantes résistantes, simplement imbibées d'eau et stérilisées à l'autoclave, tandis qu'ils croissent sur les mêmes, après macération aqueuse prolongée à 120°, opération qui a pour résultat de les priver des substances antagonistes qu'ils contiennent. Inversement, si on stérilise des fragments de plantes servant habituellement de support à ces Champignons et qu'on les imprègne des extraits aqueux obtenus à 120°, contenant les substances antagonistes, ces fragments deviennent impropres à la culture des Champignons considérés.

Ces expériences ramènent le problème de la spécificité, dans ces cas, à une question de composition chimique, l'impossibilité pour une plante de servir de support à un Champignon donné dépendant de la présence de substances empêchantes (tannins, térébenthines, essences, etc.). Nous avons vu ci-dessus plusieurs auteurs adopter des vues analogues en ce qui concerne les parasites. Mais, les Champignons étudiés par Lutz se conduisent plutôt comme des saprophytes que comme des parasites et ces expériences ne se rattachent qu'indirectement aux recherches sur l'Immunité chez les Végétaux.

CHAPITRE II

## Recherches sur l'Immunité naturelle des Végétaux envers les Mycoses

Pour étudier avec méthode l'Immunité des Végétaux vis-à-vis des Champignons parasites, il est de toute nécessité de déterminer tout d'abord, avec certitude, des cas d'immunité et aussi des cas de réceptivité, car « la science de l'Immunité est aussi, nécessairement, celle de la Réceptivité » (Bordet), ces deux ordres de phénomènes n'étant que deux aspects d'un même problème.

Ensuite, étant donné des cas bien établis d'immunité et de réceptivité, il faut essayer d'en pénétrer les causes. Or, l'Immunité ou la Réceptivité sont le résultat final d'un conflit entre deux organismes. Il faut donc étudier les armes, offensives et défensives, dont disposent les deux adversaires en présence, l'agresseur étant le Champignon, et l'agressé, le Végétal supérieur. Nous sommes ainsi conduits à établir trois divisions dans le présent chapitre :

A) Essais d'infection de divers végétaux par différents Champignons.

B) Etude des moyens d'attaque des Champignons.

C) Etude des moyens de défense des Végétaux supérieurs.

## A. — Essais d'infection de divers végétaux par différents Champignons

Dès le début de nos recherches, nous nous sommes adressé, pour nos expériences, à une dizaine d'espèces de Champignons assez communes, recueillies par nous-même au hasard de nos rencontres. A ces dix espèces, nous avons ajouté, ultérieurement, le *Botrytis parasitica*, qui nous a été procuré par le Bureau Central de Cultures de Champignons de Baarn (Hollande).

Nous avons d'abord expérimenté ces onze espèces sur divers Végétaux, afin de mettre en évidence des cas de Réceptivité et d'Immunité. Nous procédions habituellement à nos essais d'infection, en déposant le Champignon (conidies ou mycélium, pour les espèces dépourvues de conidies) dans une goutte de substance nutritive à la surface d'une feuille de la plante et en maintenant celle-ci dans une atmosphère très humide, pour éviter une trop prompte évaporation de cette goutte nutritive. Pour les fruits ou organes charnus riches en sucs, nous procédions ordinairement par inoculation du Champignon dans

une blessure suffisamment profonde pour éviter la dessication, après désinfection de la surface à l'alcool. Les racines tubérisées de Carotte, Navet, etc., nous permettaient de pousser encore plus loin les précautions contre toute contamination étrangère. Après avoir laissé ces organes une demi-heure dans le sublimé à 2 pour 1.000 et lavé leur surface à l'eau stérilisée, nous y découpions, avec un couteau flambé, des fragments que nous placions, en atmosphère humide, dans des récipients stérilisés; l'inoculation avait lieu par dépôt de conidies ou de mycélium dans une goutte de milieu nutritif, ou, simplement, par dépôt de conidies ou de mycélium sur une surface de section; ce dernier procédé échoue cependant parfois, même lorsque la réceptivité existe, si les tissus sont trop peu juteux ou l'atmosphère insuffisamment humide.

Les organes charnus des plantes (fruits, tubercules, cladodes, etc.) constituant un matériel de choix dans l'étude expérimentale du parasitisme, nous les avons particulièrement utilisés.

Un Végétal n'était réputé doué d'Immunité vis-à-vis d'un Champignon déterminé, qu'après l'échec des diverses méthodes d'inoculation. Nous partions toujours de cultures pures (ordinairement sur carotte stérilisée) et nous nous assurions toujours, en cas de résultat positif, que l'infection obtenue était bien due au parasite inoculé, en procédant à l'examen microscopique et à des rétrocultures.

Nous allons passer successivement en revue les onze espèces de Champignons expérimentées, et énu-

mérer les cas de réceptivité et d'immunité que nous avons constatés pour chacun d'eux.

***

*Sclerotinia Libertiana* Fuck. = *S. sclerotiorum* Libert.

Nous avons récolté ce Champignon sur une Carotte attaquée par lui. Son isolement en culture pure présente quelques difficultés, car il ne possède pas de conidies que l'on puisse ensemencer sur milieu stérilisé; c'est le mycélium lui-même qu'il faut ensemencer. Pour éviter de prélever, en même temps que ce mycélium, les bactéries qui peuvent lui être associées, nous avons avantageusement employé le procédé suivant : Un fragment de Carotte couvert de mycélium en pleine croissance est placé dans une boîte de Petri stérilisée. Tout près, mais cependant sans qu'il y ait contact, on dispose un morceau de Carotte stérilisé, relevé sur une lame de verre également stérilisée, afin de mieux assurer son isolement et d'éviter sa contamination par dessous. Les hyphes aériennes émises par le Champignon, attirées peut-être par chimiotropisme ou hydrotropisme, ne tardent pas à atteindre le morceau de carotte stérilisé et à y développer un nouveau mycélium. A ce moment, on rompt l'espèce de pont mycélien qui s'est ainsi formé et on transporte ce morceau de carotte dans un tube stérile où le développement du Champignon se poursuit.

Ce parasite a été particulièrement bien étudié par de Bary (81); il attaque de nombreuses plantes (prin-

cipalement des tubercules conservés en cave), sur lesquelles il forme souvent des sclérotes assez volumineux, sclérotes qui donnent ultérieurement naissance aux Pezizes ascosporées. L'existence de conidies chez ce Champignon est encore douteuse aux yeux de beaucoup d'auteurs. Nos observations faites sur de très nombreuses cultures sur liquide de Raulin, bouillon de carotte, suc de tomate, suc d'*Opuntia,* etc., nous permettent cependant d'affirmer que le mycélium âgé se couvre de conidies de petite taille, hyalines, sphériques et disposées en chapelet. Nous n'avons pu constater la germination de ces microconidies qui paraît être très difficile, sinon impossible.

Vu la difficulté d'obtenir les ascospores, nos inoculations ont toujours été faites avec des fragments de mycélium. Comme nos devanciers, nous avons facilement obtenu l'infection de Carottes, Navets, Topinambours, plantes de Haricot et de Fève. En outre, nous avons pu infecter des fruits : Pommes, Poires, et Tomates, dont le Champignon provoque la pourriture totale.

Par contre, les cladodes d'*Opuntia Ficus-indica* se sont montrées réfractaires, ainsi que la Betterave (racine) et les bulbes d'Oignon et de Jacinthe.

*Sclerotinia Fuckeliana* de Bary = *Botrytis cinerea* Pers.

Nos cultures ont pour origine des conidies prélevées sur des capitules de Chrysanthème en voie de pourriture dans les serres du Parc de la Tête d'Or à Lyon. Le nom de la forme ascosporée de ce Champi-

gnon est *Sclerotinia Fuckeliana*, mais nous le désignerons toujours par le binôme *Botrytis cinerea*, qui a été appliqué à sa forme conidienne, beaucoup plus fréquente, et qui nous a seule servi dans nos expériences. Ce Champignon est très répandu à l'état de saprophyte sur les débris végétaux; en outre, de nombreux auteurs ont signalé son parasitisme sur beaucoup de plantes vivantes : il peut notamment causer de grands dégâts à la Vigne (Rot gris).

Personnellement, nous avons réussi à infecter avec ce Champignon : Pommes (vertes et mûres), Poires, Pêches, Tomates (vertes et mûres), Raisins, Carottes, Navets, Topinambours, feuilles de Laitue, Haricot, Fève, Pois, Maïs, Giroflée, *Lepidium sativum*, *Euphorbia Peplus*, *Aconitum Napellus*, *Mentha viridis*, *Sinapis nigra* et *alba*, *Allium Cepa*, *Echeveria secunda*, feuilles et baies d'*Atropa Belladonna* et de *Solanum Dulcamara*. Cependant, les cladodes d'*Opuntia Ficus-indica* se sont montrées réfractaires à l'infection.

M. Beauverie (13, 14) a démontré que ce Champignon est susceptible, dans certaines conditions, de donner naissance à une race stérile, désignée sous le nom de « Toile » par les horticulteurs, qui exerce de grands ravages dans les serres et les cultures sous châssis. Nous avons isolé (par le même procédé que pour le *Scl. Libertiana*) une souche de ce Champignon, dans les serres du Parc de la Tête d'Or, et obtenu avec elle, l'infection de Haricots, Fèves, Laitues, Carottes, Poires, Pommes, Tomates. Cependant, on peut noter que son développement est lent dans les

fruits. Les cladodes d'*Opuntia* sont également réfractaires à cette forme du *B. cinerea.*

Notons que notre souche de « Toile », repiquée de nombreuses fois depuis sept ans sur Carotte stérilisée, a conservé une constance remarquable de ses caracteres et de sa virulence, ce qui confirme les vues de M. Beauverie sur la fixité de cette race de *B. cinerea.*

### *Botrytis cana* Kunze et Schum.

Nous avons obtenu notre souche de *B. cana* à partir d'un bulbe d'Oignon attaqué par ce parasite, à la surface des écailles duquel il formait une moisissure grise. Ce Champignon produit de petits sclérotes qui ont été décrits sous le nom de *Sclerotium cepivorum* Berk. La germination de ces sclérotes n'a pas encore été observée, ni la fructification ascosporée obtenue, de sorte qu'on ne peut, malgré de fortes affinités, classer cette espèce dans le genre *Sclerotinia.* Frank l'identifiait au *Sclerotinia Fuckeliana,* mais c'est une erreur, car les formes conidiennes *B. cinerea* et *B. cana* sont nettement différentes. Même l'aspect macroscopique des cultures est différent.

D'après Sorauer (219), les Oignons seuls sont atteints par ce parasite. Cependant Voglino a observé sur l'Ail une maladie sclérotique tout à fait analogue, qu'il attribue au *Sclerotium cepivorum :* toutefois, il n'a pas trouvé de conidies de la forme *Botrytis,* mais de petites conidies globuleuses disposées en pinceaux, qu'il n'a pu faire germer.

D'après nos expériences, le *B. cana,* inoculé dans

des blessures, provoque la pourriture des Tomates, Pommes, Pêches et Poires. Il peut donc causer la pourriture des fruits, et, si on ne l'a jamais signalé sur ceux-ci, c'est sans doute qu'on l'a confondu avec le *B. cinerea*. Ses conidies, déposées sur des blessures de feuilles ou de bulbes d'Oignon (*Allium Cepa*) amènent rapidement une pourriture qui peut s'étendre à toute la plante. Par contre, nous n'avons pu infecter des feuilles de Fève ni de Haricot. Si on dépose sur ces feuilles une goutte de milieu nutritif chargé de conidies de *B. cana*, celles-ci germent et attaquent légèrement les tissus sous-jacents, mais il se produit seulement de petites taches autour desquelles se forme rapidement un liseré cicatriciel. Sur des tranches de Carotte ou de Navet, des cladodes d'*Opuntia*, nous n'avons pas pu non plus obtenir d'infection. Inoculé dans des blessures de bulbilles d'Ail, même avec une goutte de milieu nutritif, ce Champignon ne produit aucune infection, ce qui infirme l'opinion de Voglino rapportée ci-dessus. Il semble donc bien, qu'à part les fruits charnus, le *B. cana* soit incapable d'infecter d'autres plantes que l'*Allium Cepa*. Il y a là un fait intéressant de spécificité.

### *Botrytis parasitica* Cavara.

Notre culture originelle provient du Centraalbureau voor Schimmelcultures de Baarn. Ce Champignon attaque fréquemment les Tulipes (tige, feuilles et bulbe). Il produit de petits sclérotes de 1 à 2 mm. de diamètre, qui ont été décrits sous le nom de *Scle-*

*rotium Tulipæ* Libert, mais les périthèces ne sont pas connus. Il est cependant probable que ce Champignon doive rentrer dans le cycle de développement d'un *Sclerotinia.*

D'après Klebahn, cette espèce fait preuve d'une grande spécialisation. A part la Tulipe, son hôte habituel, chez lequel elle peut envahir toute la plante, elle n'attaque que les feuilles de Glaïeuls et les fleurs de Narcisse et de Crocus.

Personnellement, nous n'avons pu infecter ni la Jacinthe ni l'Oignon (feuilles) ; des tentatives d'infection de tranches de Carotte et de Navet, de cladodes d'*Opuntia* sont également restées sans résultat. Mais nous avons pu constater que, comme le *B. cana,* ce Champignon infecte facilement, par blessure, divers fruits (Pomme, Poire, Tomate) dont il amène la pourriture. Sur la Tomate, il forme, à l'intérieur des tissus, d'innombrables petits sclérotes. Nous n'avons pas constaté sur ces fruits la production de conidies.

Disons d'ailleurs que chez le *B. parasitica* la faculté de produire des conidies disparaît très rapidement en culture artificielle et cette particularité nous a empêché de faire toutes les expériences d'infection que nous aurions désiré exécuter avec cette intéressante espèce.

*Mucor Stolonifer* Ehrb. = *Rhizopus nigricans* Ehrb.

Notre souche provient d'une contamination accidentelle d'un ballon de liquide de Raulin. Ce Champignon étant souvent considéré comme un simple saprophyte, la plupart des traités de Pathologie végé-

tale n'en font pas mention. Cependant, Sorauer (219) le cite comme agent de la pourriture des Pommes, d'après les travaux de Wehmer. Behrens l'a trouvé à l'état spontané sur Poires et Tomates, et, par inoculation expérimentale, a obtenu avec lui, la pourriture de Prunes, Framboises et Groseilles. D'après Hauman-Merck, il cause, en Argentine, la pourriture des tubercules de Patate.

Nous avons effectué, avec ce Champignon, des infections de Poires, Pommes, Pêches, Raisins, Tomates vertes et mûres. Mais, en dehors des fruits, nos tentatives d'infection n'ont donné que des résultats négatifs : ainsi, sur feuilles de Haricot, de Fève, sur tranches de Topinambour, Carotte et Navet. Nous n'avons pas eu plus de succès sur les tissus charnus et juteux de l'*Echeveria secunda* et de l'*Opuntia Ficus-indica,* qui ressemblent cependant à ceux des fruits par leur consistance et leur succulence.

*Penicillium glaucum* Link.

Souche recueillie sur pain humide. De même que le précédent, ce Champignon est habituellement considéré comme exclusivement saprophyte. Cependant, nous avons, avec cette espèce, facilement obtenu l'infection de Pommes (vertes et mûres), Poires, Pêches, Raisins, Tomates (vertes et mûres). Nous avons échoué avec les tubercules de Topinambour, Carotte et Navet, ainsi qu'avec les cladodes de l'*Opuntia.*

*Monilia fructigena* Pers. = *Stromatinia fructigena* (Pers.) Ritz.-Bos.

Le point de départ de nos cultures fut un Coing attaqué par ce Champignon. On sait que cette espèce attaque communément les fruits. En effet, nous avons facilement infecté, avec nos cultures, des Pommes, Poires, Pêches et Tomates. Ce dernier fruit n'avait cependant jamais été, croyons-nous, signalé comme susceptible d'être parasité par le *Monilia*.

Nous n'avons pu infecter avec ce Champignon, ni la Carotte, ni le Navet, ni les cladodes d'*Opuntia*.

*Pestalozzia versicolor* Speg.

Trouvé dans une serre sur une feuille morte de *Crassula lactea*. Avec les conidies, que les cultures produisent en abondance, nous avons infecté des Pommes, Poires, Pêches et Tomates, mais les plantes grasses (*Echeveria* et *Opuntia*) sont réfractaires, ainsi que la Carotte et le Navet.

Cette espèce a été quelquefois considérée comme parasite sur les organes végétatifs de diverses plantes, mais les travaux récents de Catharina Doyer (1) ont démontré l'inexactitude de cette opinion. Nos expériences d'infection corroborent les résultats de cet auteur en ce qui concerne l'innocuité de ce Champignon pour les organes végétatifs de différents végétaux, mais nous montrent que cependant il peut parasiter les fruits aussi bien que les Champignons précédemment examinés.

(1) Doyer (C.). — Unters. über die sogenannten Pestalozzia-Krankheiten und die Gattung Pestalozzia de Not (Mededeelingen uit het phytopathologisch Laboratorium. Baarn, 1925.

*Cephalothecium roseum* Corda.

Recueilli sur rafles de Raisin. Ce Champignon a donné lieu à des opinion diverses. Aderhold décrit deux Poires attaquées par cette espèce; Reinitzer lui attribue une pourriture amère des Pommes; John Craig et van Hook également. La question se complique du fait de la difficulté de distinguer les deux espèces : *Cephalothecium roseum* Corda et *Trichothecium roseum* Link. De Bary (83) envisage leur identité possible, la deuxième n'étant probablement qu'une forme appauvrie de la première ; Sorauer (219) et Woronine partagent cette manière de voir. Or, Woronine et Cattaneo incriminent le *Trichothecium* dans plusieurs maladies et Brick le trouve sur des Pommes atteintes de « Baldwin fruit spot ». Enfin Iwanoff montre son rôle pathogène par infections artificielles de Pommes.

Quant à nous, nos inoculations du *Cephalothecium* à Pommes, Poires, Pêches et Tomates, et aux cladodes charnus d'*Opuntia,* ont donné constamment des résultats négatifs. La pourriture des fruits inoculés se produisait bien parfois, mais les rétrocultures montraient toujours qu'elle était due à un Champignon adventice (*Penicillium glaucum* en général). Les observations des auteurs citant le *Cephalothecium* comme agent de la pourriture des fruits vivants, sont donc entachées d'erreur, soit par confusion avec le *Trichothecium,* si les deux espèces sont réellement distinctes, soit parce que le Champignon incriminé était simplement saprophyte sur des tissus déjà morts.

Nos expériences amènent à conclure que le *Cephalothecium roseum* est un pur saprophyte.

*Acrostalagmus cinnabarinus* Corda.

Récolté sur Pomme de terre moisie. Ce Champignon n'a, à notre connaissance, jamais été signalé comme parasite. Dans nos expériences, il s'est montré incapable d'infecter Pommes, Poires, Pêches, Tomates et cladodes d'*Opuntia*.

*Stysanus stemonitis* (Pers.) Corda = *Melanospora stysanophora* Mattir.

Trouvé également sur Pomme de terre. Ce Champignon est ordinairement réputé saprophyte. Nos essais d'infection sur les fruits (Pommes, Poires, Pêches, Tomates) et sur l'*Opuntia* ont toujours donné des résultats négatifs.

***

Les résultats de nos nombreuses expériences d'infection faites sur diverses plantes avec les Champignons précédemment énumérés, nous conduisent à établir une classification parmi eux.

Les uns (*Cephalothecium roseum, Acrostalagmus cinnabarinus, Stysanus stemonitis*) sont de purs saprophytes, incapables d'attaquer les tissus vivants, qui sont tous immuns envers eux; d'autres (*Mucor stolonifer, Penicillium glaucum, Monilia fructigena, Pestalozzia versicolor*) n'attaquent que les fruits charnus : les organes végétatifs sont immuns; d'autres, enfin (*Sclerotinia Libertiana, Botrytis cinerea,*

*B. cana, B. parasitica*), sont capables de parasiter les organes végétatifs d'un plus ou moins grand nombre de plantes. Parmi ces derniers Champignons, il faut distinguer ceux qui ne parasitent que les organes végétatifs d'une seule espèce (*B. cana*) ou d'un nombre très restreint d'espèces étroitement apparentées (*B. parasitica*) et ceux qui, très polyphages, attaquent au contraire un grand nombre d'espèces très diverses. Nous avons vu que, cependant, il en existe qui sont immunes envers eux. Si polyphage que soit un parasite, il possède toujours une certaine spécificité et on n'en a jamais signalé qui soit pathogène dans toute la série (végétale ou animale), c'est-à-dire qui soit réellement pantophage.

## B. — Etude des moyens d'attaque des Champignons

Les Champignons parasites peuvent utiliser, pour pénétrer et progresser dans les tissus de leur hôte et agir sur ceux-ci, deux catégories de moyens : les actions mécaniques (pression, perforation) et les actions chimiques (sécrétion de substances capables de léser les tissus).

### I. — ACTIONS MECANIQUES

Elles sont employées par les Champignons, notamment pour traverser l'épiderme, quand celui-ci existe. La présence de stomates constitue une voie de pénétration utilisée, souvent exclusivement à toute

autre, par de nombreuses espèces de Champignons (Urédinées, Péronosporées, *Botrytis parasitica,* etc.), mais d'autres espèces ne traversent l'épiderme que par perforation. C'est le cas, par exemple, du *Botrytis cinerea.*

Dans quelles conditions a lieu cette perforation ? Brooks sur la Laitue, Guillon sur le Raisin, ont constaté que si on dépose des conidies de *B. cinerea* dans un peu d'eau, à la surface de l'épiderme, ces conidies germent, mais l'infection ne se produit pas. Mais le Champignon devient capable de perforer l'épiderme s'il est ensemencé dans une goutte de solution nutritive. Nous avons repris ces expériences sur la Laitue et le Raisin et vérifié leur exactitude. En outre, nous les avons étendues à un certain nombre d'autres plantes : feuilles de Haricot, Maïs, Euphorbes, *Lepidium sativum,* fruits de Tomate. Toujours nous avons constaté que les spores de *B. cinerea :*

1° Semées sur des plaies, amènent l'infection, sauf si une dessication trop rapide fait périr le mycélium naissant ;

2° Semées dans l'eau à la surface d'épidermes intacts, n'amènent pas d'infection, ce qui montre le rôle protecteur de l'épiderme et la non utilisation des stomates comme voie de pénétration par ce parasite;

3° Semées dans une goutte de milieu nutritif (bouillon de carotte, jus de raisin, etc.), provoquent l'infection par perforation de l'épiderme. Cette perforation a lieu par suite de la formation d'organes spéciaux, de crampons, formation qui nécessite une

nutrition préalable suffisante du jeune mycélium. On sait, en effet, que l'excitation de contact (thigmotropisme) amène souvent les Champignons à former des organes spéciaux (appressoriums, crampons, organes d'attachement, « Haftorgane » des auteurs allemands), qui fournissent un solide point d'appui aux hyphes pour leur pénétration à travers l'épiderme sous-jacent. Ces organes sont particulièrement bien développés chez le *Botrytis cinerea* (et aussi chez le *Sclerotinia Libertiana*); ils ont été bien étudiés par Büsgen, par Beauverie (14) et par Istvanffi, et nous avons eu très fréquemment, au cours de nos recherches, l'occasion de vérifier l'exactitude de leurs observations et de leurs descriptions. Nous n'y reviendrons donc pas.

Nous avons également expérimenté avec le *Mucor stolonifer* et constaté que les spores de ce Champignon, ensemencées dans de l'eau pure à la surface de l'épiderme intact de fruits de Tomate, n'amènent pas l'infection, tandis qu'ensemencées dans une goutte de milieu nutritif (suc de Tomate, par exemple), elles provoquent une infection rapide.

L'épiderme de la Tomate se comporte donc de la même manière vis-à-vis du *M. stolonifer* que du *B. cinerea*, c'est-à-dire que son rôle protecteur se limite au cas où les spores germent dans l'eau pure. En présence d'un mycélium rendu plus vigoureux par la présence d'un milieu nutritif, il se laisse aisément perforer. Ceci se conçoit d'ailleurs facilement, en se rappelant que, d'après Miyoshi (170), les hyphes

des Champignons peuvent exercer sur leur substratum des pressions assez considérables.

Cependant, avec le *Penicillium glaucum*, nous n'avons pu obtenir la perforation de l'épiderme de la Tomate. Dans ce cas, la protection mécanique est efficace.

Nos expériences nous amènent à faire une remarque d'une certaine importance. Miyoshi indique que la perforation des membranes par les Champignons n'a pas lieu si le milieu situé au-dessus de la membrane est aussi nutritif que celui situé au-dessous, parce qu'alors l'attraction chimiotropique ne s'exerce plus. Or, dans certaines de nos expériences, ce cas se trouvait réalisé (suc de Tomate à la surface de Tomate, jus de Raisin à la surface de Raisin) et cependant, la pénétration du Champignon se produisait, ce qui tend à démontrer que le chimiotropisme n'est pour rien dans cette pénétration.

## II. — ACTIONS CHIMIQUES

Les Champignons parasites agissent sur les tissus de leurs hôtes, non seulement par des moyens mécaniques, mais surtout par l'action chimique de leurs produits de sécrétion. Le premier exemple de cette action a été trouvé chez le *Sclerotinia Libertiana* par de Bary (84) qui, en étudiant ce Champignon, découvrit le rôle pathogène de ses sécrétions et leur importance capitale dans le mécanisme de l'attaque parasitaire. En exprimant le suc de Carottes envahies par le Champignon, il obtint un liquide qui produisait sur

les fragments de Carotte saine qu'il y plongeait, le même effet que le Champignon lui-même, c'est-à-dire la dissociation des tissus par dissolution des lamelles mitoyennes des parois cellulaires et la plasmolyse suivie de mort des cellules. Par culture du Champignon sur une solution nutritive, il obtint un liquide doué des mêmes propriétés. L'ébullition détruisait l'action dissociante de ces liquides et affaiblissait considérablement l'action toxique.

C'était une importante découverte pour la Pathologie générale. Elle passa cependant inaperçue et il était réservé à Behring et surtout à Roux et Yersin, dans leurs études sur la diphtérie de démontrer à nouveau l'identité des effets pathogènes déterminés par un microorganisme et par les toxines qu'il sécrète. On sait l'importance qu'a pris, depuis lors, l'étude des toxines des bactéries zoopathogènes.

L'étude des toxines en phytopathologie a été beaucoup plus incomplète, d'une part, parce que les phytopathologistes ont tourné leurs efforts beaucoup plus sur les faits morphologiques que sur les faits physiologiques, et, d'autre part, parce que cette étude présente, chez les plantes, des difficultés plus grandes que chez les animaux.

Il n'est pas inutile de résumer les travaux effectués sur ce sujet depuis de Bary.

Marshall Ward (236), en étudiant une maladie du Lis causée par un *Botrytis*, constate que le liquide sur lequel le Champignon a été cultivé jouit de propriétés analogues à celles du liquide de culture du *Scl. Libertiana*. Il conclut à la présence d'une enzy-

me (1) dissolvant la membrane, mais ne peut indiquer la cause de l'action toxique.

Behrens extrait d'une Pomme attaquée par le *Penicillium luteum*, ainsi que d'une Poire envahie par le *Mucor stolonifer*, des sucs qui sont toxiques, même après ébullition.

Nordhausen constate que la transformation des membranes par le *Botrytis cinerea* est due à une enzyme détruite par la chaleur, mais que l'action toxique, quoique affaiblie, résiste à l'ébullition. Aussi tend-il à admettre que l'acide oxalique sécrété par le Champignon joue un rôle dans cette action. Après lui, R.-E. Smith attribue le rôle prépondérant à cet acide, non seulement comme agent de la mort des cellules, mais comme cause de dissociation des tissus.

Kean constate l'existence d'une pectinase dans des végétaux envahis par le *Mucor stolonifer*, le *Phytophthora infestans* et un *Botrytis*, et Laurent (137) retrouve chez le *Scl. Libertiana* les faits observés par de Bary.

Hauman-Merck, dans le suc de patates (*Ipomea batatas*) attaquées par le *Mucor stolonifer*, reconnaît deux principes : une pectinase et une substance de nature inconnue, ne disparaissant pas complètement par chauffage à 120°, et qui tue le contenu cellulaire. Weimer et Hartner, expérimentant sur neuf espèces

(1) Cette enzyme a été appelée « cytase » par certains auteurs. D'autres, étant donné qu'elle agit sur les substances pectiques qui, d'après Mangin (159), constituent la lamelle mitoyenne, l'ont désigné sous les noms de « pectosinase » ou, plus souvent, de « pectinase ».

de *Rhizopus*, dont sept seraient parasites de la Patate et deux non parasites, constatent que toutes produisent de la pectinase, mais que l'une des espèces parasites (*Rh. nigricans*) en produit très peu, tandis que les espèces non parasites en produisent en quantité considérable.

Enfin Brown (41) fait des recherches approfondies sur la sécrétion du *B. cinerea;* il arrive à la conclusion que les deux effets de cette sécrétion : la mort des cellules et la dissolution des lamelles mitoyennes, sont dues à une seule substance de nature analogue aux enzymes, car les causes (chaleur, agitation) qui suppriment l'un des effets, suppriment l'autre en même temps.

Toutes les recherches précédentes ont été faites, comme celles de de Bary, sur des fragments de tissus végétaux. Plusieurs auteurs ont aussi étudié l'action des sécrétions des Champignons, sur des plantes entières ou des rameaux coupés et plongés par leur base dans des liquides contenant des sécrétions. Citons Pantanelli (*Scl. Libertiana,* divers *Fusarium*) (182), Brandes (*Fusarium cubense* de la Banane), Haskell (*F. oxysporum* de la Pomme de terre) et Bewley (*Verticillium albo-atrum* de la Tomate). Enfin Picado (189), conclut que la fanaison des plantes en expérience, le brunissement des vaisseaux, et la dissociation des tissus n'obéissent pas à la même cause, que les effets peuvent varier avec les plantes auxquelles on s'adresse, que les substances nocives se trouvent en général dans le mycélium et ne passent à l'extérieur que dans de vieilles cultures plus

ou moins autolysées, et enfin, que la fanaison peut être obtenue avec des liquides chauffés à 100°, ce qui n'arriverait pas s'il s'agissait de toxines ou de diastases.

Nos premières recherches sur ce sujet (176) ont été les suivantes. En exprimant le suc de Poires, Pommes ou Tomates attaquées par le *Mucor stolonifer* et le *Penicillium glaucum,* nous obtenions des liquides acides doués de la propriété de désorganiser les divers tissus végétaux qu'on y immergeait (fragment de Pomme, de Poire, de tige de Fève, de tubercule de Topinambour, de Carotte, de bulbe d'Oignon). Au bout d'un certain temps, ces tissus étaient dissociés et leurs cellules étaient plasmolysées et tuées, c'est-à-dire présentaient exactement les mêmes phénomènes que les tissus des fruits parasités par les Champignons en question (1).

La meilleure manière d'observer ces faits consiste à faire des coupes épaisses (200 μ environ) de tissus végétaux vivants et de les immerger dans les sucs à étudier. En examinant de temps à autre ces coupes sous le microscope, on peut suivre la marche des phénomènes.

L'action exercée sur les fruits par le *P. glaucum* et le *M. stolonifer,* apparaît ainsi comme causée par des substances sécrétées par ces Champignons et qui, diffusant dans la chair du fruit parasité, se retrouvent dans le suc que l'on peut en extraire.

(1) Il n'est pas sans intérêt, au point de vue historique, de rappeler que c'est Davaine (79, 80) qui, le premier, a montré que la pourriture des fruits est causée, non pas, comme on le croyait, par une altération chimique résultant d'une exagération de la maturité, mais par l'envahissement par divers Champignons.

La nature enzymoïde de ces substances était démontrée par le fait que les sucs, chauffés à 60° pendant un quart d'heure, perdent définitivement leur pouvoir de dissocier les tissus végétaux, tandis que, refroidis aux environs de 0°, ils voient leur action suspendue jusqu'au retour à la température ordinaire.

Ces substances peuvent être extraites des sucs actifs en traitant ceux-ci par plusieurs volumes d'alcool fort : on obtient ainsi des précipités floconneux qui, recueillis par filtration ou centrifugation, se redissolvent presque totalement dans l'eau. Ces solutions exercent sur les tissus végétaux, les mêmes effets que les sucs à partir desquels on les a obtenus.

En milieux alcalins, l'action enzymatique ne se produit plus.

Par la suite, nous avons retrouvé des faits analogues avec les sucs extraits de végétaux attaqués par divers Champignons : *Sclerotinia Libertiana* et *Botrytis cinerea* où ces phénomènes étaient déjà connus, *B. cana, B. parasitica, Monilia fructigena, Pestalozzia versicolor,* où ils étaient constatés pour la première fois. Nous les avons aussi constatés avec l'*Orcheomyces psychodis,* l'*O. chloranthæ* et l'*O. hircini* dont il sera question plus loin. Soit en tout avec onze espèces.

L'importance des sécrétions des Champignons dans les faits relatifs au parasitisme étant évidente, nous avons cherché à les étudier de plus près. Nous avons pensé qu'il serait utile de comparer l'activité des sécrétions des divers Champignons étudiés. Dans ce

but, nous avons fait de nombreuses cultures sur milieux liquides de faible épaisseur, en matras à fond plat. Ces cultures furent faites, soit séparément, soit le plus souvent, pour nous placer dans des conditions identiques pour toutes les espèces, simultanément sur le même milieu. Malgré toutes les précautions, les résultats furent très variables d'une série d'expériences à l'autre.

Le liquide de Raulin est un bon milieu nutritif pour la plupart des espèces considérées, excepté pour le *Cephalothecium roseum* qui y pousse lentement, et surtout pour l'*Acrostalagmus cinnabarinus* et le *Stysanus stemonitis* dont le développement, très lent, ne va pas jusqu'à la production de conidies. Le bouillon de carotte et le suc de tomate sont d'excellents milieux pour tous nos Champignons. Leur inconvénient est le manque de constance de leur composition.

Nous faisions agir ces liquides de culture, après complet développement des Champignons, sur des coupes de Carotte épaisse de 200 μ. D'une culture à l'autre, les résultats variaient beaucoup et tel Champignon qui, dans une culture, donnait un liquide très actif, ne donnait qu'un liquide d'activité très faible dans une autre. Bornons-nous à indiquer les temps minima constatés pour la dissociation des coupes de Carotte. Ces temps sont en raison inverse des activités maxima des liquides de culture.

*Botrytis cinerea* (forme Toile) ..... 5 minutes
— (forme conidienne) ... 10 —

| | | |
|---|---|---|
| *Sclerotinia Libertiana* | 10 | — |
| *Monilia fructigena* | 20 | — |
| *Botrytis parasitica* | 30 | — |
| *Mucor stolonifer* | 2 | heures |
| *Botrytis cana* | 3 | — |
| *Penicillium glaucum* | 6 | — |
| *Cephalothecium roseum* | 8 | — |
| *Pestalozzia versicolor* | 12 | — |
| *Acrostalagmus cinnabarinus* | 16 | — |
| *Stysanus stemonitis* | 6 | jours |

Les Champignons les plus redoutables et les plus polyphages (*S. Libertiana, B. cinerea*) sont aussi ceux qui produisent les sécrétions les plus actives, et les simples saprophytes n'ont que des sécrétions d'activité faible ou même presque nulle (*S. stemonitis*). Cependant, on remarque que le *P. versicolor*, parasite des fruits, vient après le *C. roseum*, saprophyte et que le *B. parasitica* et surtout le *B. cana*, qui peuvent attaquer des organes végétatifs, sont précédés par de simples parasites des fruits.

Deux séries de cultures, limitées aux espèces suivantes : *S. Libertiana, B. cinerea, B. cana, M. stolonifer, P. glaucum, C. roseum*, faites sur suc d'*Opuntia* stérilisé, ont donné des liquides dénués de toute action dissociante. Nous avions d'abord pensé que ce fait pouvait expliquer l'immunité de l'*Opuntia* envers ces Champignons. Mais il n'en est rien. Nous verrons, en effet, plus loin, que la plupart des plantes se laissent, après leur mort, facilement envahir par des Champignons envers lesquels, vivantes, elles

étaient immunes. C'est notamment le cas de l'*Opuntia* avec ces espèces et nous avons ainsi reconnu que, cultivées sur des morceaux de cladodes découpés aseptiquement et tués par le chloroforme, le *S. Libertiana* et le *B. cinerea* donnent une bonne production de pectinase qui réduit les tissus de la cladode en une bouillie visqueuse. Le suc qu'on en retire a le pouvoir de dissocier des coupes de tissus végétaux divers. Donc, l'immunité de l'*Opuntia* ne tient pas à une impossibilité pour les Champignons de produire de la pectinase en se nourrissant de sa substance.

Un fait qui ressort de nos expériences et qu'il convient de noter est celui-ci : les sécrétions des Champignons sont capables de dissocier non seulement des plantes qu'ils peuvent parasiter, mais aussi de nombreuses autres plantes. Ainsi, les sécrétions de Champignons qui n'attaquent que les fruits (*M. stolonifer*, *P. glaucum*, etc.) sont néanmoins capables d'agir sur des fragments de plantes très diverses. De même, les sécrétions du *B. cana* et du *B. parasitica* agissent sur des tissus de plantes diverses et non pas seulement sur ceux de l'Oignon ou de la Tulipe.

L'immunité des Végétaux ne repose donc pas, en général, sur la résistance de leurs tissus aux sécrétions des Champignons envers lesquels ils sont immuns.

Cependant, parmi les végétaux étudiés, la Betterave se fait remarquer par la résistance de ses tissus à l'action dissociante des sécrétions des Champignons. Des coupes de Betterave demandent trente à quarante fois plus de temps pour se dissocier dans le

liquide de culture du *S. Libertiana* que des coupes de Carotte de même épaisseur. Cette résistance peut expliquer l'immunité de la Betterave envers ce parasite.

Le mécanisme de l'action léthale des sécrétions fongiques mérite de retenir notre attention. Les auteurs ne sont pas d'accord à ce sujet. C'est que si la dissociation des tissus est un fait très facile à constater, il n'en est pas de même de la mort des cellules. Les premiers expérimentateurs reconnaissaient que les cellules étaient mortes, à l'aspect granuleux et opaque du cytoplasme coagulé, et Brown, à l'absence de plasmolyse dans une solution hypertonique, ou, s'il s'agissait de cellules à suc coloré, à leur décoloration provoquée par la sortie de ce suc.

Après bien des tâtonnements, nous avons adopté, pour nous rendre compte de la mort des cellules, la méthode indiquée par Ruzicka (206). Cet auteur a, en effet, montré qu'un mélange, en parties égales, de bleu de méthylène et de rouge neutre en solution à 5 pour 1.000, colore en rouge toutes les cellules vivantes et en bleu toutes les cellules mortes, et cela dans toute la série des êtres vivants. Des essais sur des tissus végétaux très variés, nous ont convaincu de l'exactitude du fait. Cette méthode permet de constater macroscopiquement la mort d'un tissu, par la coloration bleue qu'il prend. Des coupes de Navet de 200 μ d'épaisseur constituent un matériel de choix pour les expériences sur l'action léthale des liquides; elles peuvent se conserver vivantes dans l'eau ordinaire toute une journée; d'autre part, leur teinte

blanche ne masque pas le colorant fixé. Cependant, la coloration, bleue ou rouge, ne se distingue nettement qu'après régression dans l'eau, pour enlever l'excès de colorant non fixé électivement.

A l'aide de cette méthode, on peut déterminer le moment précis de la mort du contenu cellulaire.

On peut ainsi se rendre compte, en faisant des coupes dans un Navet attaqué par le *S. Libertiana* que l'action léthale s'exerce sur une ou deux assises de cellules en avant de l'action dissociante.

On constate aussi qu'en général, dans les coupes plongées dans les liquides de culture ou les sucs extraits des végétaux attaqués par des Champignons, la mort des cellules précède, souvent d'assez longtemps, la dissociation, tandis que la dissociation ne précède jamais la mort des cellules.

En comparant l'action de ces liquides, avant et après ébullition, on constate que tantôt l'action léthale est beaucoup plus faible après l'ébullition et tantôt elle demeure sensiblement la même. Ceci nous paraît devoir s'expliquer en admettant deux ordres de causes à la mort des cellules. D'une part, l'action d'une substance thermolabile, véritable toxine fongique, d'autre part, l'action de substances banales thermostabiles, et aussi, simplement l'action de perturbations osmotiques causées par le séjour dans un milieu anisotonique. Si la toxine thermolabile est plus active que les facteurs thermostabiles, le chauffage atténue beaucoup les propriétés léthales du liquide; si le contraire a lieu, le chauffage n'a pas d'influence très marquée.

Citons, par exemple, l'expérience suivante où l'action de la toxine thermostabile apparaît nettement :

On met des coupes de Navet dans du suc de Tomate sur lequel a été cultivé le *B. cinerea*. Au bout de 5 minutes, les cellules sont tuées; la dissociation n'est complète qu'au bout de 30 minutes. Le même liquide, bouilli, a perdu toute propriété dissociante et ne tue les cellules qu'en 2 heures.

Parmi les substances banales toxiques susceptibles d'être rencontrées dans les sécrétions fongiques, l'acide oxalique et les oxalates solubles ont particulièrement attiré l'attention. Nous avons vu qu'on leur a souvent attribué un rôle important dans le mécanisme de l'action parasitaire. C'est pourquoi nous avons recherché leur présence dans les liquides de culture de tous nos Champignons. Nous nous sommes d'abord assuré que les milieux utilisés ne contenaient pas par eux-mêmes d'acide oxalique. On sait que la présence de cet acide (ou de ses sels) se reconnaît à la formation par l'azotate de calcium, d'un précipité blanc, insoluble dans l'acide acétique, soluble dans l'acide chlorhydrique et l'acide azotique. Nous avons ainsi constaté que le bouillon de Carotte, le suc de Tomate, ni le suc d'*Opuntia* ne contiennent jamais d'acide oxalique (1).

Le tableau suivant donne le résultat de nos recherches concernant la présence d'acide oxalique

(1) Cependant, Massee attribue l'immunité supposée de la Tomate envers le *B. cinerea*, à la présence d'acide oxalique dans ce fruit. Or, le suc de Tomate, verte ou mûre, n'en contient jamais. Et nous avons vu que la Tomate, verte ou mûre, est très réceptive pour le *B. cinerea*.

dans les liquides sur lesquels ont été cultivés divers Champignons. Le signe + indique la présence, le signe — l'absence d'acide oxalique.

| | Bouillon de Carotte | Suc de Tomate | Raulin | Suc d'Opuntia |
|---|---|---|---|---|
| *Sclerotinia Libertiana* | + | + | — | — |
| *Botrytis cinerea* (Toile) | — | ± | — | |
| — — (forme conidienne) | + | + | — | — |
| *Botrytis cana* | + | ± | — | — |
| *Botrytis parasitica* | — | — | — | — |
| *Monilia fructigena* | — | + | — | |
| *Penicillium glaucum* | + | + | — | — |
| *Mucor stolonifer* | + | + | — | — |
| *Pestalozzia versicolor* | + | + | — | — |
| *Cephalothecium roseum* | — | — | — | |
| *Acrostalagmus cinnabarinus* | — | — | | |
| *Stysanus stemonitis* | — | — | | |

On remarque que la Toile et le *B. cana* cultivés sur suc de Tomate produisent parfois de l'acide oxalique et parfois n'en produisent pas. Ceci est sans doute en rapport avec la variabilité de la composition chimique du milieu.

L'absence d'acide oxalique dans le Raulin sur lequel a été cultivé le *Scl. Libertiana*, ou le *B. cinerea*, n'empêche pas ces liquides d'exercer des actions léthale et dissociante très énergiques sur les tissus végétaux, ce qui démontre que cet acide n'est pas

indispensable à ces actions, et infirme l'opinion exprimée par divers auteurs, R.-E. Smith en particulier.

En résumé, les Champignons ne produisent de l'acide oxalique que dans certains milieux de culture. Certaines espèces (*B. parasitica, M. stolonifer*), quoique pouvant exercer d'énergiques actions parasitaires, semblent même incapables d'en produire, quel que soit le milieu nutritif sur lequel elles se développent. En tout cas, cet acide n'est pas indispensable à la manifestation de l'action léthale, ni de l'action dissociante des sécrétions fongiques.

## C. — Etude des moyens de défense des Végétaux contre les Champignons

Les moyens de défense des Végétaux contre les parasites peuvent se répartir en deux grandes catégories : ceux qui préexistent à toute attaque et ceux qui n'apparaissent que sous l'influence de l'atteinte de l'organisme étranger. Les défenses de la première catégorie étant purement passives, si elles sont suffisantes pour assurer l'immunité, celle-ci peut être appelée immunité *passive* (1). Au contraire, celles de la deuxième catégorie sont le résultat d'une réaction active de la plante; elles assurent, si elles sont suffisantes, l'immunité *active*.

(1) Ce terme n'a pas ici la même signification qu'en Zoopathologie où, par immunité passive, on désigne l'immunité conférée passagèrement par injection de sérum provenant d'animal en état d'immunité active.

## DEFENSES PASSIVES

Les défenses passives peuvent être mécaniques ou chimiques. Parmi ces dernières, on peut concevoir l'intervention de substances de composition définie, ou, au contraire, de substances complexes, analogues aux anticorps normaux que l'on rencontre parfois dans les humeurs des Animaux.

### I. — Moyens Mécaniques

Les obstacles mécaniques à la pénétration des Champignons (cuticule de l'épiderme, liège, etc.) assurent souvent une protection efficace. Mais l'immunité d'origine mécanique n'est pas absolue. Elle disparaît si on supprime l'obstacle. C'est pourquoi Vavilov propose de qualifier les plantes douées d'immunité mécanique, non pas de plantes immunes, mais seulement de « disease-escaping plants », c'est-à-dire plantes échappant aux maladies.

Ainsi, par exemple, nous avons vu que le fruit de la Tomate est mis à l'abri des attaques du *Penicillium glaucum* par son épiderme, mais, si celui-ci est lésé, le Champignon pénètre rapidement.

Les Champignons peuvent parfois surmonter les obstacles mécaniques par des moyens également mécaniques. Nous avons examiné cette question précédemment; nous n'y reviendrons donc pas.

On peut aussi supposer que les Champignons sont capables d'attaquer par leurs sécrétions les barrières cutinisées ou subérifiées. L'expérience montre qu'il n'en est rien : les membranes cutinisées, ne fût-ce

que très légèrement (épiderme d'écailles de bulbe d'Oignon, par exemple) résistent à l'action des sécrétions fongiques; il en est de même des assises subérifiées de la racine de Carotte, etc.

Ces membranes cutinisées ou subérifiées sont non seulement résistantes à l'action des sécrétions fongiques, mais, de plus, elles sont imperméables à celles-ci. Ainsi, si on plonge un fragment de tige (de Haricot, par exemple) limité par deux sections transversales, mais dont l'épiderme est intact, dans le liquide de culture du *Botrytis cinerea*, on constate que le ramollissement des tissus se propage uniquement dans le sens longitudinal, ce qui démontre que la substance active ne peut pénétrer que par les surfaces de section et non par la surface naturelle protégée par l'épiderme.

### II. — Moyens Chimiques

L'influence de la composition chimique des plantes a été souvent invoquée pour expliquer l'immunité ou la réceptivité. Les composés définis présents dans les plantes et que l'on peut supposer nuisibles aux Champignons et jouer ainsi un rôle dans l'immunité, sont très nombreux. Nous examinerons seulement le cas de deux groupes de substances toxiques, très répandues chez les Végétaux et assez souvent citées comme facteurs d'immunité, mais qui n'ont fait l'objet d'aucune recherche expérimentale à ce point de vue. Nous voulons parler des alcaloïdes et des huiles essentielles.

On a aussi très souvent attribué un grand rôle aux acides présents dans le suc cellulaire. Nous avons parlé assez longuement de cette question dans la partie historique et vu que beaucoup d'auteurs ne leur reconnaissent pas l'importance que d'autres veulent leur accorder. Nous nous bornerons à rappeler à ce propos que les Champignons sont acidophiles, et que, par exemple, l'acidité de l'*Opuntia* ne saurait être la cause de son immunité envers tous les Champignons que nous lui avons inoculés, puisque, comme nous le verrons plus loin, ils sont tous capables de se développer sur son suc.

Nos expériences sur le rôle de la toxicité des alcaloïdes et des essences dans la défense des plantes contre les Champignons ont été effectuées avec le *Botrytis cinerea*.

### *Rôle des Alcaloïdes*

Nous cultivions le *B. cinerea* dans des matras à fond plat, sur liqueur de Raulin additionnée de quantités variables des alcaloïdes expérimentés. Afin d'éviter les modifications chimiques que les alcaloïdes auraient pu éprouver par le chauffage à l'autoclave en présence des diverses substances entrant dans la composition du liquide de Raulin, nous procédions de la manière suivante : on stérilisait une série de matras contenant chacun 10 $cm^3$ de cette liqueur à une concentration double de sa concentration normale et, après refroidissement, on ajoutait aseptiquement à chacun d'eux la quantité convenable d'alca-

loïde, dissoute dans 10 cm³ d'eau et stérilisée séparément.

La nicotine dissoute dans la liqueur de Raulin dans des proportions variant de 1 pour 1.000 à 25 pour 1.000 n'entrave en rien la végétation du *B. cinerea* qui se développe sur ces milieux en produisant d'abondants conidiophores et de nombreux sclérotes parfois très volumineux.

Le sulfate d'atropine, en proportions variant de 1 pour 1.000 à 20 pour 1.000, ne nuit également pas au Champignon qui croît avec luxuriance sur ces milieux toxiques, en produisant de même de nombreux conidiophores et sclérotes. Cependant, à la concentration de 30 pour 1.000 le développement reste presque nul.

Le sulfate de quinine, aux concentrations inférieures, à 4 pour 1.000, se comporte comme les alcaloïdes précédents. Au-dessus, jusqu'à 10 pour 1.000, il ne se forme plus de sclérotes. A 20 pour 1.000, le développement du Champignon se réduit à de petits thalles de quelques millimètres de diamètre. A 30 pour 1.000 aucun développement n'a lieu.

L'aconitine cristallisée, aux concentrations de 1 pour 1.000 et 2 pour 1.000 entrave déjà visiblement la végétation du Champignon. Cependant, à la première de ces doses, des sclérotes peuvent encore se produire. A la concentration de 4 pour 1.000 il ne se produit que de petits thalles de faibles dimensions. A la concentration de 10 pour 1.000 un certain nombre de spores germent encore, mais le développement s'arrête presque aussitôt.

Dans ces expériences, nous avons atteint, avant d'empêcher le développement du Champignon, des concentrations en alcaloïdes bien supérieures à celles qui existent dans les tissus des plantes qui les produisent. L'atropine et la nicotine se sont révélées particulièrement peu nocives pour le *B. cinerea* et l'on peut considérer comme nul leur rôle dans la défense des végétaux contre ce Champignon.

De fait, nos expériences d'inoculation nous ont montré que les feuilles et les baies de la Belladone sont facilement infectées par le *B. cinerea*. Le Tabac s'infeste aussi, quoique il semble moins sensible ; cependant, les expériences faites *in vitro* démontrent que la nicotine ne joue aucun rôle dans la lutte entre la plante et le Champignon.

Quoique la quinine exerce une action défavorable à doses suffisamment élevées, les *Cinchona* ne sont pas exempts des attaques du *Botrytis*, ainsi que Lutz (145) l'a signalé.

L'action de l'aconitine nous avait fait escompter une immunité possible de l'*Aconitum Napellus* aux attaques du Champignon. Nos expériences d'inoculation nous ont montré qu'il n'en était rien et que la teneur en aconitine des feuilles est insuffisante pour exercer une action protectrice appréciable.

En résumé, le *B. cinerea* présente une résistance très grande à l'action toxique des alcaloïdes et la présence de ces substances dans les tissus des plantes est inefficace pour empêcher l'infection. Le rôle des alcaloïdes dans la défense des Végétaux contre les Champignons parasites semble donc être négligeable ou même nul.

### *Rôle des huiles essentielles*

Les huiles essentielles étant douées de propriétés antiseptiques plus ou moins marquées, plusieurs auteurs ont pensé que ces composés peuvent jouer un rôle dans la défense des Végétaux qui en produisent. Aucune étude comparative du pouvoir nocif des essences sur les Champignons parasites n'ayant été faite jusqu'alors, nous avons procédé pour ces substances comme pour les alcaloïdes, en expérimentant d'abord *in vitro* et en prenant également pour sujet d'expérience le *B. cinerea,* cultivé sur Raulin en matras à fond plat.

Notre manière de procéder fut, pour les essences, l'inverse de celle employée pour les alcaloïdes. Tandis que, pour ceux-ci, utilisant toujours une quantité constante de Raulin, nous y ajoutions une quantité croissante de l'alcaloïde expérimenté, pour les essences, nous faisions croître la quantité de liquide nutritif, la quantité d'essence ajoutée restant constante (1 goutte) (1). On avait ainsi des dilutions croissantes au lieu d'avoir des concentrations croissantes. Cette différence de méthode était imposée par la grande activité des essences et la difficulté de doser de très minimes quantités de ces liquides.

A des matras contenant de 20 à 500 centimètres cubes de Raulin, on ajoutait aseptiquement 1 goutte de l'essence expérimentée. Le compte-gouttes employé

(1) Sauf pour les essences qui, dès les premiers essais, se montrèrent les moins actives (Reine des Prés, Persil) où nous avons été amené à ajouter plusieurs gouttes dans 20 centimètres cubes de Raulin.

donnait vingt gouttes au centimètre cube, ce qui permettait d'évaluer la dilution en volume. Nous avons cherché à établir pour quelques essences la dilution limite à laquelle le développement du Champignon devenait possible. En prenant l'inverse du chiffre trouvé pour la dilution, on obtient le chiffre exprimant la concentration. Nous avons ainsi obtenu les résultats suivants :

| | | |
|---|---|---|
| Essence de Reine de Prés..... | | 1/80 |
| — | Persil ..... | 1/200 |
| — | Géranium rosat ..... | 1/1.000 |
| — | Menthe ..... | 1/1.200 |
| — | Anis ..... | 1/4.000 |
| — | Amandes amères ..... | 1/5 000 |
| — | Moutarde noire ..... < | 1/10.000 |

ce qui traduit le fait qu'aucun développement du Champignon n'avait lieu dans un demi-litre de Raulin, additionné d'une goutte d'essence de Moutarde noire. Nous n'avons pas poussé la dilution plus loin.

On voit que l'essence de Reine des Prés (composée principalement d'aldéhyde salicylique) n'a qu'un faible pouvoir empêchant : la concentration nécessaire pour arriver à empêcher le développement du *B. cinerea* est environ six fois plus forte que la proportion de cette essence dans la fleur de Reine des Prés, qui serait d'environ 1 pour 500 d'après Gildemeister et Hoffmann (1). De sorte que son rôle dans la défense de la plante contre le parasite ne peut être que très faible.

(1) Gildemeister et Hoffmann. *Les huiles essentielles.*

L'essence de Persil n'est pas très active non plus. Cependant, nos essais d'infection nous ont montré que cette plante est vraiment résistante au *B. cinerea*. Cette résistance est bien d'origine chimique, car, même tué (par les vapeurs de chloroforme) le Persil ne se laisse pas envahir par ce Champignon. L'essence existe-t-elle dans la plante en quantité suffisante pour rendre compte de ce fait, ou bien s'agit-il d'une autre substance présente dans la plante ? En l'absence de documents indiquant la proportion d'essence contenu dans le Persil, il n'est pas possible de se prononcer.

Les essais d'infection de Géranium rosat (*Pelargonium odoratissimum* Willd.) et de Menthe (*Mentha viridis* L.) effectués en déposant sur les feuilles des gouttes nutritives chargées de conidies de *B. cinerea*, ont donné des résultats positifs. Cependant, ces plantes contiennent une proportion d'essence généralement supérieure à celle qui, *in vitro*, empêche la croissance du Champignon, puisque la Menthe en contient 2 à 3 pour 1.000 et le Géranium rosat de 0,7 à 8 pour 1.000. Pour expliquer l'infection, il faut remarquer que, chez ces plantes, l'essence est contenue dans des poils sécréteurs. Si ces poils ne sont pas lésés au point de laisser échapper l'essence en quantité notable, le développement du Champignon ne sera pas empêché. C'est ce qui avait lieu dans nos expériences d'infection par gouttes nutritives contenant les conidies. Au contraire, on échoue si on essaie de provoquer l'infection par blessures. Il est probable que, dans bien d'autres cas, l'étroite localisation des essences les rend inoffensives pour les parasites.

Les essences d'Amandes amères et de Moutarde nous présentent un autre aspect de la question. Elles ne préexistent pas dans les tissus végétaux vivants. Ce sont des produits de dédoublements de glucosides (amygdaline, sinigrine) par des enzymes (émulsine, myrosine), renfermés dans des cellules distinctes, mais si une cause de désorganisation vient à agir sur les tissus, ces substances entrent en contact et la réaction s'opère en produisant l'essence (aldéhyde benzoïque, isosulfocyanate d'allyle). Toutes les fois qu'il y a blessure, l'essence se produit et peut contribuer à en interdire l'accès aux parasites. D'ailleurs, si le Champignon amène la plasmolyse des cellules, comme c'est le cas pour le *B. cinerea,* la rencontre des deux facteurs nécessaires à la formation de l'essence aura lieu.

C'est ce qui explique pourquoi les feuilles de Laurier-Cerise (*Prunus Lauro-cerasus*) se sont montrées réfractaires à l'infection par le *B. cinerea.* On sait, en effet, qu'elles contiennent l'amygdaline et l'émulsine nécessaires à la production de l'aldéhyde benzoïque (essence d'amandes amères). Si on les soumet à l'action des vapeurs de chloroforme, qui causent une plasmolyse rapide, elles dégagent une forte odeur d'amandes amères. Le *B. cinerea,* ensemencé sur des feuilles ainsi tuées, et dont la surface est mouillée par le suc exsudé du parenchyme, ne germe pas. L'immunité des feuilles de Laurier-Cerise envers le *B. cinerea* est donc due à l'essence que cette plante peut produire sous l'action de la plasmolyse.

Par contre, malgré le très haut pouvoir fongicide

de l'essence de Moutarde, le *Sinapis nigra* est susceptible d'être attaqué par le *B. cinerea*. Guignard (1) a montré que les feuilles de cette plante peuvent produire l'essence; sa concentration y est cependant très minime, car, après avoir fait agir les vapeurs de chloroforme, l'odeur de moutarde que nous avons pu y déceler était très faible. C'est ce qui explique que le Champignon peut s'y développer quelque peu.

En résumé, les huiles essentielles ont une action empêchante marquée sur le développement du *B. cinerea ;* certaines sont des fongicides très énergiques. Cependant, les expériences d'inoculation montrent qu'en général, ces substances, soit à cause de leur trop faible quantité, soit à cause de leur localisation, ne peuvent protéger efficacement les plantes qui les produisent (2).

### *Propriétés fongicides des sucs végétaux*

Un des plus importants facteurs de l'immunité chez les Animaux consiste dans l'existence de propriétés parasiticides dans les humeurs. Parmi celles-ci, c'est

(1) Guignard (L.). Influence de l'anesthésie et du gel sur le dédoublement de certains glucosides chez les plantes (*C. R. Ac. Sc.*, t. 149, 1909).

(2) Dans le groupe des essences sulfurées, nous n'avons étudié que l'essence de Moutarde. Il eût été cependant intéressant d'expérimenter également avec les essences d'Ail et d'Oignon; mais malgré de très nombreuses démarches, il nous a été impossible de nous procurer ces produits. — Nous pouvons noter, à propos de l'Ail, que le *B. cana* et le *B. cinerea* refusent de se développer sur les bulbes d'Ail tués par les vapeurs de chloroforme, ce qui semble indiquer une action empêchante de l'essence. Par contre, le *Scl. Libertiana* se développe vigoureusement sur l'Oignon traité de la même manière; l'essence est donc étrangère à l'immunité de l'Oignon envers ce Champignon.

en général le sang que l'on étudie, ou plus exactement son sérum.

Ce qui, chez les Végétaux, semble le mieux correspondre aux humeurs des Animaux, c'est la sève élaborée circulant dans le liber, d'où elle diffuse dans toutes les cellules vivantes. Mais les difficultés d'isoler cette sève en quantité appréciable rendent son étude impraticable.

On peut aussi considérer les sucs totaux extraits par pression des tissus végétaux. On objecte, avec raison, que ces sucs constituent des liquides artificiels, résultant du mélange de substances qui ne sont jamais en contact dans les plantes vivantes et qu'ils sont généralement très instables. Mais il faut bien reconnaître que le sérum aussi est quelque chose qui n'existe pas non plus dans l'organisme vivant, c'est du plasma modifié profondément par la coagulation qui le prive du fibrinogène, mais l'enrichit de substances que les éléments figurés (hématies, leucocytes, hématoblastes) y répandent en se désorganisant plus ou moins. Malgré cela, l'étude des sérums rend les plus grands services en Immunologie animale; on peut donc aussi escompter retirer d'utiles indications de l'étude des sucs en Immunologie végétale.

De plus, si les sucs extraits par pression n'existent pas normalement chez la plante, ils se produisent, tout au moins en petite quantité, chaque fois que la plante est blessée. Or, les blessures sont une porte d'entrée pour les parasites ; s'ils y rencontrent un suc défavorable, leur développement et leur pénétration seront empêchés. C'est ce qui se produit chez certaines plantes à essences (Menthe).

On peut aussi supposer que des substances analogues aux anticorps normaux des Animaux peuvent exister dans les sucs végétaux.

Nous avons donc extrait les sucs d'un certain nombre de plantes (par broyage dans un mortier en verre et expression à travers un linge, pour éviter tout contact avec un métal susceptible d'altérer le suc). Quelques gouttes du suc obtenu étaient immédiatement placées dans la cavité d'une lame de verre évidée et ensemencées de suite avec les spores du Champignon expérimenté. On laissait la lame dans une enceinte saturée d'humidité et chaque jour, on la portait sous le microscope, pour observer le résultat.

Une première question que nous nous sommes proposé de résoudre par cette méthode est celle-ci : Le suc frais (à l'état naissant, pour ainsi dire), des plantes immunes envers un Champignon, est-il capable de tuer ses spores ou au moins d'inhiber leur développement ?

Un premier groupe d'expériences a porté sur les Champignons que nous avons reconnu être de purs saprophytes, incapables même d'infecter les fruits charnus. Le suc de ces fruits est-il fongicide pour eux? La réponse est nettement négative : Les conidies de *Stysanus stemonitis, Acrostalagmus cinnabarinus, Cephalothecium roseum*, ensemencés dans les sucs de Pomme, Poire, Pêche, Tomate y donnent rapidement un abondant mycélium.

Une deuxième série d'expériences a porté sur des Champignons parasites des fruits, mais inoffensifs pour les autres organes des plantes. Des sucs extraits

de feuilles de Laitue, de Fève, de cladodes d'*Opuntia*, de tubercules de Carotte, ensemencés avec les spores de *Penicillium glaucum*, *Mucor stolonifer*, *Monilia fructigena* ou *Pestalozzia versicolor*, se couvrent de mycélium et même de fructifications de ces Champignons.

Enfin, dans une troisième série d'expériences, nous avons voulu voir si les conidies du *Botrytis cana* qui ne parasite que l'*Allium Cepa* et les fruits charnus, pouvaient se développer dans les sucs des plantes ci-dessus énumérées, qui sont immunes envers lui. Ici encore, aucune action empêchante ne s'est manifestée.De même, les conidies du *B. cinerea* poussent sur le suc de l'*Opuntia* qui est réfractaire à l'infection par ce Champignon. Dans tous ces cas, il n'a donc pas été possible de constater une action fongicide ou inhibitrice des sucs sur les spores de Champignons envers lesquels les plantes d'où proviennent ces sucs sont immunes.

Le suc de Navet se comporte de façon particulière. Il laisse germer le *Botrytis cinerea*, le *Mucor stolonifer* et le *Pestalozzia versicolor*, mais empêche la germination du *B. cana*, du *Penicillium glaucum*, du *Cephalothecium roseum* de l'*Acrostalagmus cinnabarinus* et du *Stysanus stemonitis*.

En reportant sur Raulin, des spores de *B. cana* et de *P. glaucum*, ayant subi 24 heures l'action de ce suc, on constate qu'elles sont tuées.

Sur du suc de Navet bouilli ou seulement chauffé à 65° pendant 1 heure, les Champignons poussent. Faut-il en conclure l'existence d'anticorps thermola-

biles ? Avant de l'affirmer, il faut remarquer que le Navet, comme toutes les Crucifères, contient des substances sulfureuses volatiles, auxquelles il convient peut-être d'attribuer l'action fongicide.

***

Nous avons vu que les sécrétions des Champignons parasites plasmolysaient les cellules végétales, ce qui amène l'épanchement des sucs cellulaires dans les espaces intercellulaires. Si ces sucs sont défavorables au parasite ,ils seront évidemment des facteurs d'immunité. Ils sont certainement assez différents des sucs totaux extraits par le procédé brutal de la pression, et qui consistent en un mélange de suc cellulaire avec des débris de cytoplasme, et de membrane et où flottent aussi des plastides et des noyaux. Mais nous avons pensé que si nous pouvions provoquer artificiellement une exsudation de sucs, sans amener la rupture des membranes cellulaires, il serait possible d'admettre que ceux-ci correspondent sensiblement à ceux dont les toxines des parasites provoquent la sortie.

Or, un moyen facile d'obtenir ce résultat, est l'atmolyse de R. Dubois (dialyse chloroformique de Dastre). On sait qu'en maintenant des tissus vivants dans une atmosphère saturée de vapeurs anesthésiques, on ne tarde pas à provoquer la plasmolyse, ainsi qu'une exsudation plus ou moins abondante de sucs à la surface des tissus. R. Dubois a montré que le froid intense produit le même effet, mais cet agent physique

est moins commode à manier que les vapeurs chloroformiques.

Les résultats sont les mêmes avec ces sucs obtenus par atmolyse qu'avec ceux obtenus par pression ; ces sucs atmolysés ont seulement l'avantage de pouvoir être recueillis aseptiquement, dans le cas d'organes assez gros. (Racines tubérisées de Carotte et Navet, cladodes d'*Opuntia*, etc.)

On peut aussi ensemencer les Champignons à la surface de fragments végétaux atmolysés. Le *Sclerotinia Libertiana* pousse vigoureusement sur l'Oignon atmolysé, qui, vivant, est réfractaire. Il pousse aussi, ainsi que le *Botrytis cinerea*, sur l'*Opuntia* atmolysée, qui, vivante, est aussi immune. Dans tous ces cas, les Champignons dissocient énergiquement les tissus atmolysés.

Avec le Navet, les résultats correspondent à ceux constatés avec les sucs. Sur la Carotte atmolysée, tous les Champignons se développent. La plupart dissocient plus ou moins complètement ses tissus. Cependant, les trois saprophytes n'exercent qu'une action assez faible, surtout le *Stysanus stemonitis* qui n'attaque les tissus que sur quelques millimètres de profondeur.

### *Propriétés antitoxiques des sucs végétaux*

On peut songer à rechercher si les sucs végétaux contiennent des substances agissant à la manière des antitoxines des humeurs des Animaux et pouvant

jouer un rôle dans la défense des plantes contre les parasites.

De fait, Brown (41) a montré que plusieurs sucs végétaux avaient un effet empêchant sur l'action de la pectinase du *Botrytis cinerea.* Mais il n'a pu trouver de rapports entre l'intensité de cet effet et la plus ou moins grande réceptivité des espèces végétales par ce Champignon.

Nous avons également procédé à des recherches analogues en opérant avec les sécrétions de plusieurs Champignons et divers sucs végétaux.

Nous mélangions habituellement des volumes égaux de suc végétal et d'un liquide contenant les sécrétions du Champignon (liquide de culture ou suc de plante attaquée), que, pour la commodité du discours, nous désignerons simplement sous le nom de toxine. D'autre part, nous préparions, pour servir de témoin, un mélange en volumes égaux, de toxine et d'eau. Voici les résultats que nous avons obtenus.

La toxine du *Sclerotinia Libertiana* (culture sur Raulin) n'est pas affaiblie par le suc de Carotte. Par contre, le suc d'*Opuntia* exerce un effet empêchant très marqué. Ajouté dans la proportion de 1/10, son effet est déjà sensible. A volumes égaux, il rend l'action dissociante 12 fois moins forte que celle du liquide témoin.

Mais il n'affaiblit qu'à peine l'action des sécrétions du *B. cinerea :* un liquide de culture de ce Champignon qui, additionné de son volume d'eau, dissocie des coupes de Navet en 2 heures 1/2, les dissocie en 3 heures, s'il est additionné de son volume de suc

d'*Opuntia*. La toxine de *Botrytis cana* (suc d'Oignon attaqué), additionné de son volume de suc d'Oignon sain, est 3 fois moins active qu'additionnée de son volume d'eau.

Avec la toxine du *Mucor stolonifer* (extrait de Tomate attaquée), mélangée à son volume de suc de Laitue, les résultats sont très variables. Le suc de Laitue obtenu par pression, est un liquide vert foncé, qui, même après centrifugation prolongée, reste très trouble. Après ébullition et filtration il donne un liquide jaune limpide. Par filtration sur bougie, d'ailleurs très pénible, on a un liquide d'aspect analogue. Les effets de ces trois sortes de suc de Laitue préparés à partir de la même plante, sont sensiblement les mêmes, ce qui exclut l'existence de substances thermolabiles ou l'influence de la forte turbidité du suc, à laquelle on pourrait attribuer une action d'adsorption. Mais d'une plante à l'autre, les effets sont très variables. Quelquefois, le mélange toxine + suc de Laitue, montrait sensiblement la même activité que le mélange toxine + eau; parfois, au contraire, il se montrait jusqu'à 25 fois moins actif.

Mélangée au suc de Fève (à volumes égaux), la toxine du *Mucor* devient environ 7 fois moins active que le mélange témoin. Ce suc d'aspect analogue au précédent, est très instable et noircit rapidement à l'air. Par ébullition et filtration, on a un liquide limpide jaunâtre, qui ne noircit pas, l'oxydase qui cause ce phénomène ayant été détruite par la chaleur. L'effet du suc bouilli sur la toxine, n'est que la moitié de celui du suc frais.

Toujours dans les mêmes proportions le suc d'*Opuntia* rend le pouvoir dissociant des sécrétions du *Mucor,* 20 à 25 fois plus faible, et le suc de Navet 10 fois plus faible que celui du mélange témoin.

Au contraire, le suc de Tomate n'exerce pas d'action affaiblissante.

Dans toutes les expériences, les effets des sucs bouillis étaient sensiblement les mêmes que ceux des sucs frais, excepté, comme nous l'avons dit, pour le suc de Fève. Les substances empêchantes ne sont donc pas thermolabiles.

L'effet de ces sucs ne se fait pas seulement sentir sur l'action dissociante, mais aussi sur l'action léthale. Par exemple, une toxine de *Scl. Libertiana,* qui additionnée de son volume d'eau tue des coupes de Navet en deux heures, ne les tue qu'en cinq heures, additionnée de son volume de suc d'*Opuntia.* Il y a donc non seulement une action antipectinasique, mais une véritable action antitoxique. Mais l'étude de ce phénomène, comme celle de l'action toxique, ne peut être faite avec précision, à cause de l'intervention des substances toxiques banales et des actions osmotiques.

Si nous comparons l'effet des sucs sur les toxines et le comportement envers les parasites, des plantes qui les ont fournis, nous constatons que le suc de la Tomate, qui est facilement attaquée par le *Mucor,* n'a pas de pouvoir antitoxique, tandis que la Fève, le Navet, l'*Opuntia,* qui sont immuns envers lui, donnent un suc doué d'un pouvoir antitoxique assez considérable.

La Carotte, facilement attaquée par le *Scl. Libertiana,* possède un suc sans action antitoxique tandis que l'*Opuntia,* réfractaire, fournit un suc très antitoxique.

Ces faits sembleraient donc indiquer un rapport entre l'immunité et l'action antitoxique des sucs. Mais, d'autres cas ne cadrent pas avec cette conclusion. La Laitue, toujours immune envers le *Mucor* donne souvent un suc très antitoxique, mais parfois aussi un suc inactif. Le suc d'*Opuntia* n'agit que faiblement sur la toxine du *B. cinerea,* et surtout, le suc de l'Oignon, plante électivement attaquée par le *B. cana* possède un notable pouvoir empêchant.

## DEFENSES ACTIVES

Par analogie avec ce qu'on connait en Immunologie animale, on peut envisager la possibilité de l'existence, chez les Végétaux, de trois catégories de processus dans les phénomènes de défense active : réactions histogènes, réactions phagocytaires et réactions humorales, avec, naturellement, les modifications imposées par l'organisation propre aux organismes végétaux. Dans la partie historique, nous avons parlé assez longuement de la phagocytose végétale. Ce processus de défense ne pouvant, chez les plantes, s'appliquer qu'aux parasites intracellulaires, nous ne pouvions le rencontrer avec les Champignons que nous avons pris comme principal matériel d'étude, et qui sont tous intercellulaires. Nous n'avons donc étudié expérimentalement que les réactions histogènes et

les réactions humorales. Encore, pour ces dernières, avons-nous été amené à expérimenter sur des Champignons qui peuvent mener une vie intercellulaire.

### I. — Réactions histogènes

Les plantes opposent fréquemment à l'envahissement du parasite, une barrière plus ou moins importante de tissus modifiés ou même néoformés. On sait que les Végétaux blessés se cicatrisent suivant des procédés variés, mais aboutissant toujours à la formation de membranes subérifiées; des phénomènes analogues se produisent à la limite des zones nécrosées par les parasites. Nul doute que ces réactions n'interviennent utilement dans la lutte du Végétal contre la maladie. Cependant, nous ne croyons pas qu'elles jouent un rôle décisif et nous pensons qu'il ne faut pas en exagérer l'importance.

C'est pourtant ce que nous semblent avoir fait certains auteurs tels qu'Hauman-Merck, d'après qui le parasitisme de blessure ne dépend que d'une véritable course entre le développement du parasite dans les assises de cellules blessées, incapables de se défendre, et la subérisation des membranes des cellules saines situées immédiatement en-dessous. Si le parasite sécrète des produits toxiques très actifs, les cellules encore saines sont tuées avant d'avoir pu subériser leur membrane, le parasite les envahit à leur tour, y produit de nouvelles toxines, et s'étend ainsi de proche en proche. Au contraire, si la subérisation peut s'effectuer à temps, la marche du Champignon est arrêtée.

Nous avons réalisé des expériences qui vont à l'encontre de cette manière de voir.

On sait que le *Mucor stolonifer*, ensemencé sur la surface de section d'un morceau de Carotte, soit directement, soit dans une goutte de milieu nutritif, est incapable de l'infecter. Au microscope, on voit que les spores ont germé et que quelques cellules sous-jacentes peuvent être tuées. Au-dessous, les cellules restées saines ont leurs parois subérisées. Est-ce cette subérisation qui s'oppose à la pénétration du Champignon? Nous allons démontrer que non. Si, en effet, on soumet pendant dix minutes, un morceau aseptique de Carotte, à l'action des vapeurs de chloroforme, les cellules sont tuées jusqu'à une profondeur de deux à trois millimètres, ainsi qu'on peut facilement le constater à l'aide de la coloration de Ruzicka. En l'examinant, au bout de huit à dix jours, on voit qu'en-dessous des cellules tuées, se trouve une zone dont les cellules ont subérisé leurs membranes. Si, sur un morceau de Carotte ainsi préparé, on ensemence la surface avec le *Mucor*, celui-ci, après s'être développé dans la couche de cellules tuées par le chloroforme, ne tarde pas à franchir la barrière des cellules subérisées, à envahir le morceau de Carotte jusqu'au centre et à le réduire en bouillie.

Cette expérience montre que si, dans la « course » dont parle Hauman-Merck, entre le développement du parasite et la subérisation des membranes, on donne à celle-ci une avance considérable, de telle sorte qu'elle soit terminée avant le début du développement du parasite, l'infection peut néanmoins se pro-

duire, même avec un Champignon peu nocif, comme le *Mucor stolonifer*. Cette subérisation constitue donc un obstacle insuffisant. *A fortiori*, si, sans attendre la cicatrisation, on ensemence avec le *Mucor*, un morceau de Carotte dont les assises superficielles de cellules ont été tuées, l'infection se produit.

Le *Mucor stolonifer* peut donc se révéler pathogène pour la Carotte si son développement est convenablement « amorcé », pour ainsi dire, par une vie saprophytique dans la zone tuée. On peut admettre que si l'infection se produit, c'est parce que la quantité de toxine produite par le Champignon dans cette zone morte est assez considérable pour que les cellules vivantes sous-jacentes soient dans l'impossibilité d'y résister. Elles se comportent alors comme les cellules de coupes de Carottes plongées dans des liquides sur lesquels a été cultivé le *Mucor*.

Pour que cette explication soit valable, il faut que la barrière cicatricielle de la Carotte soit perméable aux sécrétions fongiques. C'est ce que démontre, en effet, l'expérience suivante. On découpe aseptiquement de petits cubes de Carotte, on les laisse se cicatriser, puis on les immerge dans le liquide de culture du Champignon; au bout de quelques jours, on constate qu'ils sont complètement dissociés.

Les cladodes d'*Opuntia* nous fournissent aussi des exemples montrant que le rôle de la cicatrisation est d'importance secondaire. Si on injecte à une cladode, isolée de la plante-mère un liquide toxique pour ses cellules, la zone intéressée par l'injection présente à sa périphérie, au bout de quelques jours, un liseré

cicatriciel brun. Au microscope, on voit que ce liseré est constitué par la formation de trois ou quatre assises parallèles de cellules rectangulaires, à parois subérifiées. La coloration de Ruzicka permet de constater que cette barrière cicatricielle apparaît bien avant la mort complète du tissu qu'elle entoure, où subsistent encore de nombreuses cellules vivantes.

Si le liquide toxique est du Raulin sur lequel a été cultivé le *Botrytis cinerea*, filtré sur bougie, les phénomènes se bornent à une lente nécrose de la zone injectée et à la cicatrisation de la périphérie. Si, au contraire, le liquide n'a pas été filtré sur bougie et contient des conidies du Champignon, les phénomènes sont d'abord les mêmes; mais, après quatre à six semaines, alors que la vitalité de la cladode séparée de sa plante-mère, commence à s'affaiblir, le *B. cinerea* franchit le liseré cicatriciel et envahit les tissus environnants dont il amène la pourriture.

En injectant du Raulin sur lequel a été cultivé le *Sclerotinia Libertiana*, et qui, non filtré, contient d'infimes fragments de mycélium, on obtient des résultats analogues. Dans ces deux cas, la barrière cicatricielle s'est montrée insuffisante pour empêcher la propagation du parasite lorsque les tissus de l'*Opuntia* sont devenus aptes à permettre son développement.

Lorsque la cladode est laissée adhérente à la plante-mère le Champignon reste confiné à la zone injectée.

En somme, la cicatrisation est un rempart. Mais un rempart est insuffisant à barrer le passage à l'en-

vahisseur si, derrière, ne se trouvent des défenseurs. Ces défenseurs, dans les tissus menacés, ce sont les cellules vivantes. Si leur vitalité faiblit, l'envahisseur franchit aisément le rempart. Celui-ci est d'ailleurs construit par les défenseurs eux-mêmes : si, au moment de l'attaque, les cellules ont peu de vitalité (fruits mûrs, cladodes cueillies depuis longtemps) la cicatrisation ne s'effectue pas. L'activité défensive réside donc essentiellement dans les cellules vivantes et la cicatrisation n'est qu'une des manifestations de cette activité.

### II. — Réactions humorales

Pour rechercher les réactions humorales chez les Végétaux, nous avons procédé à des injections d'antigènes dans des cladodes d'*Opuntia Ficus-indica* qui sont un matériel de choix par la facilité avec laquelle on peut y effectuer des injections et en extraire par pression des quantités assez considérables d'un suc qui, par filtration sur papier, devient presque limpide.

Notre technique consistait à couper en deux moitiés identiques les cladodes utilisées. L'une des moitiés était injectée, l'autre servait de témoin. Les injections étaient échelonnées de distance en distance sur le bord de la cladode, par doses de 0,5 centimètre cube. On injectait ainsi, en 12 à 16 doses, 6 à 8 centimètres cubes d'antigène par demi-cladode d'environ 20 centimètres de long. Les antigènes utilisés ont été, soit des suspensions de conidies dans l'eau, soit des liquides de culture de Champignons. Une à trois semaines après l'injection, on extrayait le

suc de la demi-cladode injectée, ainsi que celui de la demi-cladode témoin et, après filtration sur papier, on comparait leur action sur l'antigène. Les injections d'antigène provoquent généralement une nécrose plus ou moins prononcée des zones directement atteintes par le liquide; on n'extrayait que le suc des parties saines, et de préférence, les plus voisines des zones injectées, où on pouvait supposer que les réactions seraient les plus intenses.

Nous avons ainsi cherché à mettre en évidence la production d'agglutinines et de lysines pour les conidies, et d'antitoxines pour les liquides de culture.

La recherche de l'agglutination des spores de Champignons est rendue difficile par le fait que, pour la plupart des espèces, il est impossible, même par agitation prolongée, d'obtenir une complète dispersion des spores dans l'eau car elles ont une très grande tendance à s'accoler en groupes. Cependant, les conidies d'*Acrostalagmus cinnabarinus* ne présentent pas cet inconvénient. Nos expériences ont donc porté d'abord sur cette espèce, puis sur le *Pestalozzia versicolor*, le *Botrytis cana* et le *B. cinerea*.

Nous mélangions dans un tube à agglutination, des parties égales de suspension de spores et de suc d'*Opuntia* injectée et, dans un autre tube, nous opérions de même avec le suc de la partie non injectée. Dans aucun cas, nous n'avons pu constater macroscopiquement ni microscopiquement, de différence entre les liquides des deux tubes, même au bout de 24 heures. Peu de temps après le mélange, les conidies forment un dépôt au fond des tubes. Si on agite,

on obtient de nouveau un mélange qui paraît homogène à l'œil nu. Au microscope, on ne remarque pas que les groupes de conidies soient plus fréquents ou plus volumineux dans un tube que dans l'autre, et, s'il s'agit des spores de l'*Acrostalagmus*, on les voit également isolées dans les deux liquides. Nous n'avons donc pu, en nous servant de spores de Champignons comme antigène, observer rien de semblable à ce que Picado (188) a constaté en employant des grains de pollen.

Les sucs de cladodes injectées avec des suspensions de conidies n'acquièrent pas non plus de propriétés sporicides ainsi qu'on s'en rend compte en y ensemençant ces conidies. Vingt-quatre heures après, on constate dans tous les cas, une excellente germination.

Nous n'avons pas non plus trouvé d'augmentation de l'action antitoxique du suc d'*Opuntia*, par injection préalable de Raulin sur lequel a été cultivé le *Sclerotinia Libertiana* ou le *Botrytis cinerea*. En ajoutant au liquide de culture en diverses proportions, soit le suc de la demi-cladode injectée, soit le suc de la demi-cladode témoin, l'action antitoxique est la même lorsque la proportion de suc est la même.

En utilisant comme antigène le suc de Tomate attaquée par le *Mucor stolonifer*, nous n'avons également obtenu qu'un résultat négatif quant à la production d'antitoxine.

En résumé, nous n'avons pu constater l'apparition d'anticorps acquis dans les cladodes d'*Opuntia*.

Mais l'expérimentation sur les tubercules d'une

Ophrydée va maintenant nous montrer des faits du plus haut intérêt au point de vue de la question des anticorps chez les Végétaux.

On se rappelle que nous avons signalé, dans le Chapitre I, que Noël Bernard (26) avait découvert chez les tubercules d'Ophrydées, de remarquables phénomènes qu'il rapprochait de ceux de l'Immunité humorale des Animaux.

C'est maintenant le moment de donner quelques détails à ce sujet. On sait que N. Bernard, qui avait d'abord attribué à un *Fusarium* l'infestation habituelle des racines minces des Orchidées (21), est parvenu à en isoler les véritables endophytes, qu'il range dans le genre *Rhizoctonia* (1). Or, si l'infestation des racines minces est la règle, les racines tubérisées sont au contraire épargnées par l'invasion fongique (2). Noël Bernard, qui avait constaté l'existence de la phagocytose dans les racines minces, comme procédé de défense contre l'envahissement de l'endophyte, émit l'hypothèse que l'immunité des tubercules était due à

(1) Burgeff a proposé pour ces Champignons la dénomination générique d'*Orcheomyces* et fait dériver le nom spécifique de celui de l'Orchidée dont l'endophyte a été extrait. Ainsi l'endophyte de l'*Orchis maculata* s'appellera *Orcheomyces maculatæ*. Nous adopterons cette terminologie commode et qui ne préjuge rien de la classification définitive des Champignons des Orchidées.

(2) C'est du moins le cas des tubercules ovoïdes. Mais, au cours des recherches anatomiques sur les tubercules des Ophrydées (173, 175) par lesquelles nous avons définitivement établi la nature de ces étranges organes, nous avons constaté que les digitations des tubercules palmés sont infestées de la même manière que les racines grêles; seule, la partie supérieure renflée du tubercule reste indemne. De même, le tubercule allongé du *Platanthera bifolia* est indemne dans sa partie renflée et infesté dans son prolongement inférieur aminci. Nous avons aussi découvert que, chez le *Platanthera angustata* de Java, les tubercules, peu renflés, ne présentent aucun niveau exempt d'endophyte.

des actions humorales, la phagocytose ne pouvant intervenir, puisque, pour s'exercer, elle nécessite au moins l'existence d'un commencement d'infection.

Pour vérifier cette hypothèse et mettre ces propriétés humorales en évidence, il plaçait au fond d'un tube contenant du salep gélosé, solidifié en plan incliné, un fragment aseptique du tubercule d'une Ophrydée (*Loroglossum hircinum*) et ensemençait à la partie supérieure de la gélose, un Champignon endophyte des Orchidées. Celui-ci se développait d'abord normalement sur la gélose, formant un voile à sa surface, mais, à un certain moment, la croissance du mycélium dans la direction du fragment de tubercule s'arrête brusquement à une certaine distance de ce fragment. Noël Bernard en concluait que le Champignon est arrêté par une substance nuisible que le fragment de tubercule laisse diffuser dans la gélose. L'existence de cette substance fongicide dans les tubercules explique pourquoi ils sont exempts d'infestation par les Champignons endophytes.

Ces phénomènes étant des plus importants au point de vue de la connaissance des mécanismes immunitaires chez les Végétaux, nous avions effectué, en mai-juin 1923, des expériences analogues à celles de Noël Bernard, interrompues par sa mort prématurée et qu'aucun auteur n'avait reprises.

Nous utilisions également de gros morceaux de tubercules de *Loroglossum hircinum*, découpés aseptiquement, et nous ensemencions la gélose avec l'*Orcheomyces psychodis* Burg. ou l'*O. chloranthæ*

Burg (1). Le Champignon ensemencé poussait d'abord très bien à la surface de la gélose, mais au bout de quelques jours, les filaments mycéliens cessaient de s'allonger dans la direction du fragment de tubercule et il en résultait l'existence devant ce dernier, d'une zone de 5 millimètres environ de largeur, demeurant non envahie, tandis que, dans toutes les autres directions, et même à la surface du verre du tube, le mycélium continuait à s'étendre.

Ces expériences démontrant la diffusion d'une substance empêchante provenant du tubercule confirmaient celles de Noël Bernard. Mais nous avons été amené à nous demander si, ainsi qu'il semble implicitement l'admettre, cette substance préexiste dans le morceau de tubercule ou si ce ne serait pas un produit de réaction y prenant naissance sous l'influence des toxines sécrétées par le Champignon dans la gélose et venues jusqu'à lui par diffusion.

Noël Bernard, ayant chauffé à 55° pendant 35 minutes des morceaux de tubercule de *Loroglossum*, avait constaté qu'après avoir subi ce chauffage, ils ne possédaient pas la propriété d'arrêter le développement des *Orcheomyces*. Il interprétait ce résultat en admettant que la substance fongicide est détruite par la chaleur. Ayant répété cette expérience, nous avons constaté qu'en effet, les tubercules chauffés sont rapidement envahis par les Champignons utilisés, mais cette disparition de la résistance peut aussi bien s'interpréter en admettant que les cellules des

(1) Extraits par Burgeff respectivement de deux Ophrydées, l'*Habenaria psychodes* et le *Platanthera chlorantha* et cultivés depuis, au Centraalbureau voor Schimmelcultures de Baarn.

tubercules étant tuées par la chaleur, deviennent ainsi incapables de sécréter la substance empêchante.

Partant de cette hypothèse, nous avons essayé l'action de morceaux de tubercules tués, non plus par la chaleur, mais d'une part, par un froid de — 15° environ et, d'autre part, par le séjour dans des vapeurs de chloroforme.

Dans les deux cas, l'*O. psychodis* et l'*O. chloranthæ* ne furent nullement arrêtés au voisinage de ces fragments, qu'ils recouvrirent très rapidement d'un épais feutrage mycélien. Ces tubercules gelés ou chloroformés se comportaient absolument comme les tubercules chauffés.

Dans une note (177) où nous relations ces faits, nous concluions de la manière suivante : « Pour continuer « à admettre la préexistence de la substance fungi- « cide dans les tubercules d'Ophrydées, il faudrait « donc admettre que cette substance est détruite, non « seulement par la chaleur, mais aussi par l'action « du froid et du chloroforme. Or, s'il semble possible « d'attribuer au chloroforme une action chimique « destructrice sur la substance fungicide, il est peu « vraisemblable que le froid ait pu produire le même « effet. Si, de fait, on connaît en chimie biologique « nombre de substances « thermolabiles », nous ne « pensons pas qu'on en ait signalé jusqu'ici de « cryo- « labiles ». Le froid est, au contraire, généralement « considéré comme un agent conservateur. En outre, « dans le cas particulier qui nous occupe, il serait « remarquable de voir la même substance à la fois « thermolabile et cryolabile.

« Mais cette propriété d'être détruits également « bien, soit par le froid intense, soit par la chaleur, « soit par des agents chimiques, appartient préci- « sément aux êtres vivants, et les cellules des tuber- « cules des Ophrydées sont visiblement tuées par « l'action suffisamment prolongée des températures « de 55° et —15°, ainsi que par le séjour dans les « vapeurs chloroformiques.

« Il semble donc logique de conclure que si les « tubercules des Ophrydées, chauffés, gelés ou chlo- « roformés, ne sont pas capables d'arrêter la crois- « sance des *Orcheomyces*, c'est que ces tubercules, « qui ont été tués par les agents chimiques, ou phy- « siques employés, ne sont plus susceptibles de réagir « contre l'attaque de ces Champignons par la sécré- « tion subséquente de substance fungicide. A notre « avis, ce n'est pas parce que cette substance fungi- « cide est détruite, que le Champignon n'est pas « arrêté, mais parce qu'elle ne peut être produite au « moment de l'attaque, par suite de la mort des cel- « lules du tubercule. Cette substance, prenant nais- « sance dans des tubercules vivants sous l'influence « de toxines sécrétées par certains Champignons, « mérite donc à proprement parler le nom d'anti- « corps. »

A la suite de la publication de cette note, M. Magrou (154, 155) a répété de nouveau les expériences de Noël Bernard et a obtenu des résultats identiques. Mais il croit que la substance fongicide préexiste dans le tubercule, car, dit-il, « chez la plante vivante, « les racines absorbantes sont envahies par les Rhi-

« zoctones, et les cellules du tubercule y sont, aussi « bien que dans un tube de culture, exposées à l'ac- « tion des produits sécrétés par ces Champignons. »

Nous pensons cependant qu'il y a de notables différences entre ce qui se passe dans le tube de culture et ce qui se passe dans la plante vivante. Dans celle-ci, quelque étendue que soit l'infestation des racines, la quantité totale de mycélium reste toujours minime et est loin d'atteindre la masse mycélienne qui se développe dans la gélose. Il est naturel d'admettre que la production des sécrétions du Champignon est proportionnelle à la quantité de mycélium développé. Cette production semble donc être bien plus grande dans le tube que dans la plante. D'autre part, la diffusion de ces produits de sécrétion se fait facilement dans la gélose, tandis qu'elle semble devoir se faire plus difficilement dans la plante, où, avant d'atteindre le tubercule, ils sont obligés de circuler sur une distance plus ou moins grande dans les racines, puis de passer par la base de la tige. Le tubercule n'est donc pas « aussi bien que dans un tube de culture » exposé à l'action des produits sécrétés par le Champignon et il est permis de concevoir que, malgré l'existence du Champignon dans les racines, le tubercule ne renferme pas la substance fongicide.

D'ailleurs, on sait que les interrelations des divers organes sont, chez les plantes, bien moins étroites que chez les Animaux, et, pour citer un fait analogue, Cappelletti n'a-t-il pas montré que les agglutinines qui prennent naissance dans les nodosités des racines des Légumineuses, ne se retrouvent pas en-dehors

de ces nodosités, ni dans les racines, ni dans les organes aériens (qui sont d'ailleurs réfractaires naturellement à l'infection par le *Bacillus radicicola,* comme le tubercule des Ophrydées est réfractaire à l'infection par les *Orcheomyces*).

Mais M. Magrou ne s'est pas borné à des considérations théoriques, qui peuvent se discuter. Il a réalisé une expérience qui lui semble véritablement démonstrative et confirmer pleinement son hypothèse. Voici comment il la décrit : « Un fragment aseptique « de tubercule de *Loroglossum* est placé au fond d'un « tube de gélose au salep; au bout de deux semaines « le fragment est retiré, et alors seulement le *Rhi-* « *zoctonia repens* est semé à la partie supérieure de « la gélose. Dans ces conditions, le Champignon ne « s'est développé que d'une manière insignifiante, sur « une étendue de 1 millimètre à peine, et seulement « dans la direction opposée au fragment de tuber- « cule. Le suc émané de ce dernier, en l'absence même « du *Rhizoctonia,* a donc suffi à rendre la gélose tout « entière impropre au développement de ce Cham- « pignon; la substance fungicide préexistait donc, « dans le tubercule, à l'ensemencement du mycé- « lium. »

Cette expérience était en opposition avec l'opinion que nous avions émise. D'autre part, nos constatations avec les tubercules gelés ou chloroformés, maintes fois répétées, étaient incontestables. D'ailleurs, Magrou ne les a pas contestées, ni tenté de les refaire. Mais il n'a pas expliqué comment on peut concilier les résultats de son expérience et les nôtres. Il nous

a semblé que deux hypothèses seulement étaient admissibles : ou bien la substance empêchante est d'une labilité telle que l'action du froid ou des vapeurs de chloroforme suffit à la détruire, ou bien il existe des différences individuelles dans le comportement des tubercules en face des endophytes.

Pour trancher la question de nouvelles expériences s'imposaient. Mais les *Loroglossum* sont des plantes assez peu communes; en Tunisie, où nous eûmes connaissance des travaux de Magrou, elles sont introuvables. Néanmoins, grâce à l'obligeance de botanistes qui voulurent bien nous récolter un certain nombre de ces plantes et nous les expédier vivantes, nous pûmes entreprendre de nouvelles recherches.

Nos premières expériences furent assez déconcertantes, car (opérant avec l'*O. psychodis* ou l'*O. chloranthæ* sur de jeunes tubercules récoltés en juin), nous ne pûmes obtenir de nouveau l'arrêt net constaté dans nos anciennes recherches. Le Champignon s'étendait jusqu'au contact du tubercule, sans toutefois l'attaquer. On remarquait cependant, du côté du tubercule, une zonation qui n'existait pas du côté opposé et qui ne se produit pas dans les cultures normales. On constatait aussi que la croissance du mycélium sur le verre du tube était plus rapide que sur la gélose dans la direction du morceau de bulbe. Il y avait donc une certaine action de celui-ci, mais très peu prononcée.

Avec des tubercules chauffés, gelés ou chloroformés, la croissance du Champignon s'effectuait nor-

malement. Il atteignait bientôt le fragment de tubercule, y pénétrait et le désorganisait complètement (1). Il n'est d'ailleurs pas nécessaire que l'*O. psychodis* et l'*O. chloranthæ* effectuent une croissance préalable sur la gélose pour attaquer les bulbes chauffés, gelés ou chloroformés; ensemencés directement à leur surface, ils s'y développent rapidement, puis pénètrent à l'intérieur.

Après ces infructueuses tentatives pour obtenir l'arrêt des *Orcheomyces* à une certaine distance des fragments de tubercules, nous avons pensé qu'en tout cas, il serait bien préférable d'opérer avec l'endophyte extrait de l'espèce dont on emploie le tubercule. Dans les expériences de Noël Bernard, cette espèce était presque toujours le *Loroglossum hircinum*, à cause de l'assez forte taille de son tubercule, ce qui permet d'y découper sans trop de difficultés, des morceaux aseptiques. C'était aussi celle que Magrou et nous-même avions utilisée. Mais, quoique la culture des endophytes d'assez nombreuses espèces d'Orchidées ait été réalisée, après Noël Bernard, par Burgeff, Costantin et Dufour, et, récemment, Simonet, l'endophyte du *L. hircinum* n'avait jamais été isolé. En novembre 1926, nous avons réussi son isolement et sa culture sur salep gélosé, où il se présente sous l'aspect d'un voile blanc rampant, produisant quelques spores. Nous nous réservons d'en donner

(1) De ces morceaux de tubercule envahis, on peut extraire par pression un suc contenant une pectinase susceptible de dissocier des tissus végétaux divers. Comme chez les Champignons précédemment étudiés, l'action dissociante est accompagnée d'une action léthale.

ultérieurement une description plus complète et de le comparer aux endophytes précédemment isolés. Adoptant la terminologie de Burgeff, nous le désignerons sous le nom d'*Orcheomyces hircini.*

Ce Champignon nous a permis d'effectuer d'intéressantes expériences, en utilisant des tubercules appartenant au lot de plantes d'où nous venions de l'extraire.

Ensemencé à la partie supérieure d'un tube de salep gélosé, au fond duquel se trouve un morceau de tubercule, il cesse de croître à une distance de 3 à 4 centimètres de celui-ci. Sur la ligne d'arrêt le mycélium prend un aspect duveteux qui le rend très apparent, tandis que, partout ailleurs, il est rampant, étroitement appliqué sur la gélose et à peine visible.

Nous avons cherché à comparer le plus exactement possible, le comportement de l'*O. hircini* en présence des tubercules vivants et des tubercules tués par le chloroforme. Pour éliminer l'influence de différences individuelles possibles, nous opérions de la manière suivante. Un assez gros morceau aseptique de tubercule de *Loroglossum* était sectionné en deux parties égales. Les deux fragments ainsi obtenus étaient mis dans deux tubes A et B, les deux faces adjacentes au moment de la section, étant appliquées contre la gélose. Les conditions étaient ainsi rigoureusement les mêmes dans les deux tubes. On imbibait ensuite le bouchon de coton du tube B avec du chloroforme, qu'on laissait agir 24 heures, puis on ensemençait les deux tubes avec l'*O. hircini.* Dans le tube A, le mycélium s'arrêtait à 3 cm. 5 du fragment

de tubercule, tandis que dans le tube B, il recouvrait toute la gélose, puis envahissait le tissu du tubercule. On remarquait seulement qu'à partir d'une certaine distance, le mycélium n'était plus strictement rampant, mais prenait un aspect floconneux.

La conclusion de cette expérience est qu'un tubercule qui, vivant, possède le pouvoir d'arrêter la croissance du Champignon, ne possède plus cette propriété si on l'a tué par les vapeurs de chloroforme.

D'autre part, l'action du chloroforme ne détruit pas le pouvoir empêchant du tubercule; nous avons constaté, en effet, qu'un fragment de tubercule qui venait d'arrêter la croissance de l'*O. hircini,* transporté dans un autre tube de gélose, puis chloroformé, jouissait encore dans ce nouveau tube de la propriété d'arrêter le Champignon.

Ces faits démontrent que la substance empêchante du tube A ne préexistait pas dans le tubercule utilisé, mais y est apparue sous l'influence de la culture du Champignon.

Dans une autre expérience, nous avons placé dans deux tubes C et D, des morceaux obtenus comme ci-dessus à partir d'un même bulbe. Le tube C était ensemencé immédiatement avec l'*O. hircini;* au bout de quelques jours, l'arrêt habituel se produisait. Dans le tube D, on laissait, à l'exemple de Magrou, le fragment de tubercule séjourner une quinzaine de jours, puis, après l'avoir retiré, on ensemençait, non seulement la partie supérieure de la gélose, mais aussi l'emplacement où il se trouvait. Le développement du Champignon avait lieu aux deux points ensemencés.

Donc, ce tubercule qui, en présence du Champignon, l'arrête, n'a pas laissé de substance empêchante dans la gélose, même à l'endroit où elle se trouvait en contact avec lui.

Pourtant, Magrou a constaté le contraire. Comment l'expliquer ? C'est ici qu'interviennent les différences individuelles dans le comportement des tubercules. Les expériences ci-dessus décrites ne sont pas toujours aussi nettes. Nous avons pu trouver une fois un tubercule qui, chloroformé, arrêtait l'endophyte : la substance empêchante y préexistait donc. Un morceau de ce tubercule laissé quinze jours sur la gélose, puis retiré, rend cette gélose impropre à un bon développement du Champignon. Il y a donc des cas où le tubercule possède un pouvoir empêchant préexistant. Mais c'est l'exception. Le plus souvent, cette propriété est peu marquée; on n'en trouve guère la trace que dans l'aspect floconneux inaccoutumé que prend le mycélium au voisinage des bulbes tués. Mais nos expériences démontrent que des morceaux de bulbes vivants, possédant un pouvoir empêchant presque nul, sont capables d'acquérir ce pouvoir à un haut degré en présence de la culture de l'*Orcheomyces*.

On peut se demander à quoi tiennent les différences individuelles existant entre les tubercules. Il faut vraisemblablement y voir une influence des divers degrés d'infestation des racines par l'endophyte. Une infestation très forte peut sans doute développer dans le tubercule une réaction humorale marquée, tandis qu'une infestation de degré ordinaire ne provoque qu'une ébauche de réaction, qui ne prendra son entier

épanouissement qu'ultérieurement, en présence de la menace directe du Champignon dans le tube de culture. Il n'est pas invraisemblable d'admettre que la sorte de vaccination subie dans la plante par le tubercule sous l'influence de l'endophyte présent dans les racines, le prédispose à effectuer, lorsqu'il est de nouveau soumis à cette influence, l'énergique réaction que l'on constate dans les tubes de gélose.

Comment maintenant expliquer qu'avec nos anciennes cultures d'*O. psychodis* et d'*O. chloranthæ* nous n'ayons pu obtenir en juin-juillet 1926, les mêmes résultats qu'en 1923 ? Nous supposons que la température très élevée qui règne à Tunis à cette époque de l'année, en accélérant la vitesse de croissance des cultures, les a empêché d'être arrêtées par l'action des tubercules, car, en janvier, nous avons obtenu l'arrêt de l'*O. psychodis* à 5 millimètres d'un fragment de bulbe de *Loroglossum*, comme dans nos anciennes expériences. Un morceau du même tubercule arrêtait l'*O. hircini* à 2 centimètres. On peut voir là l'influence de la spécificité. Cependant, dans les expériences de N. Bernard, elle semble peu importante puisque les endophytes extraits de diverses espèces d'Orchidées, appartenant non seulement à la tribu des Ophrydées, mais aussi aux genres *Cypripedium*, *Oncidium*, et *Acropera* ont été arrêtés par les bulbes de *Loroglossum*, sans que Bernard ait signalé de différence dans leur comportement (1).

Nous pensons qu'il n'est pas impossible aussi que

(1) M. Magrou émet donc une proposition trop absolue en disant que « l'action fungicide est rigoureusement spécifique ».

la longue série de cultures de l'*O. psychodis* et de l'*O. chloranthæ* depuis leur isolement par Burgeff, ait modifié leurs propriétés biologiques et que ces modifications n'interviennent dans la difficulté avec laquelle se produit le phénomène de l'arrêt de leur développement en présence des tubercules de *Loroglossum*. Ils tendraient ainsi à se rapprocher des Champignons banaux sur lesquels les tubercules n'exercent aucune action.

On peut se demander si les remarquables phénomènes qui se produisent lorsqu'on met en présence des *Orcheomyces* et des bulbes d'Ophrydées, peuvent se retrouver en choisissant d'autres antagonistes. Nos tentatives dans cette direction n'ont abouti qu'à des résultats négatifs.

En mettant dans un tube de salep gélosé, au lieu de bulbe de *Loroglossum,* un morceau aseptique de Carotte, nous avons vu l'*O. psychodis* se développer normalement sans aucun retard, ni zonation; il poussait jusqu'au contact du morceau de Carotte, qu'il n'envahissait cependant pas : la Carotte est immune envers ce Champignon. Au bout d'une quinzaine de jours, sous l'action de l'humidité de l'atmosphère du tube, plusieurs tumeurs commencèrent à se développer à la surface de la Carotte (1). Au bout de deux mois, elles avaient atteint un volume relativement considérable, mais cette prolifération néoplasique avait épuisé la vitalité du morceau de Carotte, de

(1) On sait que E. F. Smith (215) a montré que des tumeurs analogues à celles produites par le *Bacterium tumefaciens* peuvent naître sous l'influence de divers agents physiques ou chimiques.

telle sorte qu'alors l'*O. psychodis* put l'envahir et, par sa pectinase, provoquer la désorganisation des tissus.

En mettant un morceau de Carotte ou de Navet au fond d'un tube contenant du bouillon de carotte gélosé, et en ensemençant à la partie supérieure de la gélose, le *Botrytis cana* envers lequel ces végétaux sont immuns, on ne constate aucune perturbation dans le développement du Champignon qui s'étend jusqu'au contact de la Carotte ou du Navet, qu'il n'envahit cependant pas. Tardivement cependant, la Carotte mourante peut devenir la proie du *B. cana*. Le Navet reste toujours épargné; on se rappelle, en effet, que son suc empêche le développement de ce Champignon. Il n'en est que plus remarquable qu'aucune action ne se fasse sentir à distance : cela tient sans doute à la faible diffusibilité de la substance empêchante.

Si on met en présence de la même manière, le *Sclerotinia Libertiana* et un morceau d'Oignon, immun envers ce parasite dans les conditions ordinaires, on voit le Champignon se développer rapidement; bientôt ses sécrétions, diffusant dans la gélose, attaquent les tissus de l'Oignon et, lorsque le mycélium arrive à son contact, il trouve des cellules mortes qu'il envahit facilement et peut ainsi amener la pourriture de tout le morceau d'Oignon.

Donc, dans tous ces cas, où un Champignon se trouve en présence d'un Végétal immun, aucun phénomène analogue à ceux constatés chez les tubercules d'Ophrydées, ne peut être mis en évidence.

## CHAPITRE III

# Recherches sur l'Immunité naturelle des Végétaux envers les Bactérioses

L'étude de la Résistance des Végétaux supérieurs contre les Bactéries est à séparer dans une certaine mesure de celle de leur résistance contre les Champignons. En effet, les propriétés physiologiques de ces deux grands groupes de végétaux inférieurs, identiques sur beaucoup de points, diffèrent en ce que, tandis que les Champignons croissent mieux sur substratum acide que sur substratum alcalin, le contraire a lieu pour les Bactéries, sur le développement desquelles l'acidité exerce généralement une influence défavorable ou même empêchante, qui, au delà d'une certaine limite, devient une action bactéricide.

Or, les tissus végétaux ont toujours une réaction plus ou moins acide. Ce sont donc des milieux assez peu favorables à la pullulation de la plupart des Bactéries. Les plantes possèdent donc de ce fait, un

moyen de résistance vic-à-vis des Bactéries, moyen qui est au contraire inefficace sur les Champignons, qui sont acidophiles.

Pendant longtemps même, et jusqu'au début de ce siècle, plusieurs savants, se basant sur l'alcalinophilie des Bactéries, se refusaient à admettre la possibilité de l'existence de maladies bactériennes chez les plantes. Mais, de nos jours, grâce aux travaux des phytobactériologistes, au premier rang desquels il faut citer Erwin F. Smith, l'étude des Bactéries phytopathogènes prend de plus en plus d'importance, tant au point de vue de la Pathologie végétale que de la Pathologie générale et comparée. Le grand rôle que joue actuellement le *Bacterium tumefaciens* dans les recherches des Cancérologues en est un des meilleurs exemples.

L'étude des Bactérioses végétales étant de date relativement récente, la question de l'Immunité dans ce chapitre de la Phytopathologie est encore bien moins avancée qu'en ce qui concerne les Mycoses, ainsi qu'on a pu s'en rendre compte dans la partie historique du présent travail. Nos recherches personnelles sur l'Immunité envers les Bactéries ont été également moins étendues que sur l'Immunité envers les Champignons. Néanmoins, les résultats qu'elles nous ont fournis contribuent à compléter utilement ceux qui découlent des expériences relatées dans le précédent chapitre.

Laurent (137) ayant publié des recherches portant sur le parasitisme d'une Bactérie qu'il identifie au *B. coli communis,* nous eûmes, au début de nos

essais, l'idée d'employer, pour les expériences que nous nous proposions de réaliser, ce microorganisme, qui, entre les mains de Couvreur et de Chahovitch, venait de donner d'intéressants résultats dans le domaine de l'Immunité chez les Invertébrés. La facilité avec laquelle on peut déceler la présence de ce microbe par le procédé du virage des milieux au Rouge neutre, nous séduisait et nous semblait devoir simplifier la conduite de nos expériences.

Chahovitch ayant mis sa souche de colibacille à notre disposition, nous essayâmes d'abord de répéter les expériences de Laurent. Cet auteur rapporte que l'on rend facilement le *B. coli* pathogène pour la Pomme de terre par le procédé suivant : on plonge des morceaux de tubercule dans une solution de potasse ou de soude à 1 pour 1.000, on les y laisse séjourner deux ou trois heures, on les lave ensuite rapidement et on les ensemence avec le *B. coli.* On met ensuite dans l'étuve à 30°. L'alcalinisation des assises superficielles de cellules, qui sont d'ailleurs tuées par ce traitement, permet un premier développement de la bactérie, qui devient dès lors virulente pour la Pomme de terre et amène rapidement la pourriture du tubercule. Par des passages successifs sur la Pomme de terre, on arrive à augmenter la virulence du microbe qui devient susceptible d'infecter diverses plantes, même à suc cellulaire très acide, comme l'*Opuntia Ficus-indica.*

Pour répéter cette expérience fondamentale, nous opérâmes selon notre technique habituelle, sur des tubercules soigneusement désinfectés à la surface

par lavage au sublimé, découpés avec des instruments flambés et placés en boîtes de verre stérilisées. La solution de soude utilisée était également stérilisée à l'autoclave. Dans ces conditions d'asepsie rigoureuse, nous inoculâmes le *B. coli* aux morceaux de Pomme de terre, mais, à notre grand étonnement, aucun développement bactérien n'eut lieu.

L'expérience, répétée plusieurs fois, donna toujours un résultat négatif. Mais si l'on opère sans prendre de très minutieuses précautions d'asepsie, on obtient, en effet, presqu'à coup sûr, la pourriture du tubercule. Cette pourriture est donc évidemment causée par des germes adventices et non par le colibacille inoculé. On sait, en effet, que les Pommes de terre hébergent à la surface de leur périderme une flore bactérienne variée. Parmi les espèces qui la compose, le *Bacillus mesentericus vulgatus* est bien connu pour la grande résistance de ses spores, et van Hall (1) a montré que cette Bactérie peut attaquer les plantes vivantes. Nous-même avons pu constater sa présence dans un de nos tubercules inoculé dans des conditions d'asepsie insuffisantes et qui était devenu rapidement la proie de la pourriture.

Avec une autre souche de *B. coli communis* provenant de l'Institut Bactériologique de Lyon, nous avons abouti aux mêmes résultats négatifs. Nous croyons donc pouvoir conclure que les assertions de Laurent, quant au rôle phytopathogène joué par le *B. coli* sont erronées et reposent sur des expériences

(1) Van Hall. — *Bacillus subtilis* und *B. vulgatus* als Pflanzenparasiten (*Centr. f. Bakt.* Abt. II, Bd 9, 1902).

viciées par des contaminations que cet auteur ne semble pas avoir suffisamment cherché à éviter.

D'ailleurs, il est assez surprenant de voir Laurent déclarer que le même procédé réussit facilement à rendre pathogène pour les Végétaux, toute une série de microbes (Bacille typhique, *B. enteritidis* de Gaertner, B. de Friedländer, etc.). Dans tous ces cas, il est probable que les résultats constatés par Laurent sont dus à des contaminations par un germe étranger (1).

A la suite de ces résultats négatifs, nous avons cherché une autre Bactérie qui fût réellement phytopathogène. Le *Bacillus carotovorus* Jones répondait à notre désir (2).

Jones a établi que cette Bactérie cause la pourriture des Carottes et de nombreux autres végétaux (Navets, Radis, Salsifis, Oignons, Jacinthes, Choux, fruits de Tomate, etc.). Mais il a reconnu également des cas d'immunité vis-à-vis de ce bacille : la Betterave, l'Orange, la Banane, la Pomme, la Poire, etc., ne sont pas attaquées.

Le même auteur a montré (124, 125, 126) que cette Bactérie agit au moyen de la sécrétion d'une enzyme qui désorganise les tissus végétaux par dissolution des

(1) Par la suite, nous avons eu connaissance d'un mémoire de Jensén (121) qui n'a pu non plus reproduire l'expérience de Laurent.

(2) Deux souches de ce bacille nous ont été procurées par le Pr L. R. Jones dès le début de nos recherches, mais nous les avons perdues pendant notre déplacement de Lyon à Tunis. Par la suite, M. le Pr Beauverie a bien voulu mettre à notre disposition celle qui a servi à nos dernières expériences. Ces diverses souches se sont d'ailleurs comportées de façon sensiblement identique. Une autre souche, provenant du Kral's bakteriologische Museum de Vienne, où elle avait été cultivée pendant 25 ans sur gélose, avait perdu toute virulence.

lamelles mitoyennes des cellules, dont, en outre, le protoplasme est plasmolysé et tué. La pectinase du *B. carotovorus* se distingue de celles sécrétées par les Champignons, en ce que l'optimum de son action a lieu en milieu légèrement alcalin. Le développement du bacille a d'ailleurs pour résultat d'alcaliniser le suc de la plante attaquée.

Cette Bactérie sécrète la pectinase aussi bien en culture *in vitro* qu'*in vivo* dans les tissus végétaux. La sécrétion a lieu sur bouillon de viande ou bouillon de carotte.

Nous avons pu l'obtenir aussi en milieu entièrement synthétique, composé suivant une des formules (1) que Laurent a utilisées dans ses recherches et sur lequel l'organisme qu'il identifie au *B. coli communis* donnait également une production de pectinase (qu'il appelait improprement « cytase »).

Dans l'intention de comparer la production de cette enzyme par diverses Bactéries, nous les avons cultivées simultanément sur ce liquide synthétique. Après complet développement, les cultures furent additionnées de quelques gouttes de chloroforme et on y plongeait des coupes de carottes d'égale épaisseur (200 μ environ). Le résultat fut le suivant :

| | |
|---|---|
| *B. carotovorus* ..... | Coupes dissociées en 2 h. |
| *B. mesentericus vulgatus* ..... | Coupes dissociées en 6 h. |
| *B. carotovorus* (souche de Vienne) | Pas de ramollissement des coupes |
| *B. mesentericus niger* ..... | |
| *B. coli communis* ..... | |
| *B. pyocyaneus* ..... | |

(1) Eau, 1.000; phosphate neutre d'ammoniaque, 2,5; phosphate neutre de potasse, 2,5; sulfate de magnésie, 1; glycérine, 50.

Par cultures sur bouillon de viande, on eut un résultat analogue, à cela près que les sécrétions du *B. carotovorus* et du *B. mesentericus vulgatus* se montrèrent un peu plus actives, dissociant les coupes respectivement en 1 h. 1/2 et 3 h. 1/2.

Nous voyons donc que seules, les Bactéries capables d'attaquer les végétaux produisent de la pectinase dans les milieux de culture. La souche de *B. carotovorus* ayant perdu toute virulence, a aussi la propriété de sécréter la pectinase.

Nous avons dit qu'outre l'action dissociante qu'il exerce par la pectinase qu'il sécrète, le *B. carotovorus* tue le contenu cellulaire. Jones avait bien noté cette action léthale, mais ne semble pas avoir cherché à en déterminer le mécanisme.

Nous avons procédé à quelques expériences à ce sujet en adoptant comme critérium de la mort des cellules, leur coloration bleue par le mélange de Ruzicka.

En plongeant des coupes de Navet dans une culture de *B. carotovorus* sur bouillon de viande, on obtient la mort des cellules en 5 minutes, tandis que la dissociation n'a lieu qu'en deux heures. Avec la même culture, bouillie, la mort survient dans le même temps, tandis que la dissociation n'a plus lieu, la pectinase étant détruite.

Cette expérience semble démontrer que le Bacille produit des sécrétions toxiques coctostabiles et très actives. Cependant, si l'on plonge des coupes de Navet dans du bouillon de viande stérile, on constate qu'il possède une toxicité analogue. L'expérience n'est donc pas suffisamment démonstrative.

Le bouillon de carotte ne possède pas cet inconvénient. Or, dans une culture sur bouillon de carotte, la mort survient au bout d'une heure, la dissociation demandant deux heures pour être complète. Avec la même culture, bouillie, les cellules sont tuées dans le même laps de temps.

Enfin, une expérience plus convaincante encore est celle-ci. On exprime le suc d'un Navet attaqué par le *B. carotovorus,* on y met des coupes de Navet : elles sont tuées en 15 minutes, dans ce suc, qu'il soit cru ou bouilli, et, dans le suc cru, elles sont en outre dissociées en 1 heure 1/2. Le Bacille donne donc naissance à une substance léthale coctostabile, et dont l'action est plus rapide que celle de l'enzyme pectinolytique.

Pour nous rendre compte de l'action *in vivo* du *B. carotovorus,* nous avons fait des coupes dans un Navet attaqué partiellement. En colorant par le mélange de Ruzicka, on peut voir qu'à la limite de la zone complètement dissociée, il y a une ou deux assises de cellules qui se colorent en bleu, mais qui cependant restent encore assez solidement adhérentes, ainsi qu'on peut le constater par des essais de dissociation avec des aiguilles sous l'objectif du microscope. L'action léthale précède donc l'action dissociante.

En résumé, le pouvoir léthal des sécrétions du *B. carotovorus* est coctostabile, et, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro,* la mort des cellules précède la dissociation des tissus.

### *Etude particulière de quelques cas d'Immunité*

Nous avons cité ci-dessus des cas d'immunité constatés par Jones. Nous les avons vérifiés en ce qui concerne la Betterave, la Pomme, l'Orange. Nous avons en outre constaté que le Citron et l'*Opuntia* étaient également immuns.

Nous avons essayé d'expliquer le mécanisme de ces cas d'immunité. En ce qui concerne l'Orange et le Citron, l'idée vient de suite que l'immunité est en relation avec la forte acidité du suc cellulaire de ces fruits. Sans doute, le *B. carotovorus* peut s'accommoder de sucs assez fortement acides, puisqu'il se développe vigoureusement dans le suc de Tomate et que ce fruit est facilement et rapidement infecté par ce bacille. Mais l'acidité des sucs d'Orange et de Citron est encore bien plus élevée que celle du suc de Tomate. Dans divers dosages, nous avons trouvé pour ce dernier, une acidité variant de 0,03 N. à 0,07 N., tandis que l'acidité du suc des Oranges employées dans nos expériences était de 0,11 N. et celle du suc de Citron de 0,82 N. et on en trouve titrant respectivement 0,2 N. et 1,1 N.

Afin de rechercher si ces sucs ont une action bactéricide sur le *B. carotovorus*, nous les avons recueillis aseptiquement. Pour cela, on laissa séjourner les fruits une heure dans du sublimé à 2 pour 1.000, on les lava à l'eau stérilisée, on les coupa en deux avec un couteau flambé, puis on les pressa entre les doigts, en ayant soin de ne toucher que l'écorce, au-dessus d'un filtre en papier stérilisé, recouvert aussitôt de

papier stérile et on recueillit le filtrat dans un tube stérile. Deux tubes stérilisés reçurent ensuite chacun 2 cm³ du suc filtré; le contenu de l'un fut soumis à l'ébullition, l'autre fut conservé à l'état cru. Des solutions de même acidité que ces sucs furent préparées avec de l'acide citrique et 2 cm³ de chacune de ces solutions, stérilisés à l'autoclave.

On avait ainsi six tubes contenant chacun 2 cm³ d'un liquide stérile. Une goutte de culture de *B. carotovorus* sur bouillon fut alors ajoutée à chacun d'eux. Au bout de 3 heures, des prélèvements y furent effectués et ensemencés sur bouillon. Les prélèvements faits dans le suc de Citron, cru ou bouilli, ainsi que dans la solution d'acide citrique de même acidité, ne donnèrent naissance à aucune culture microbienne. Ces liquides ont donc tué le *B. carotovorus* en moins de 3 heures.

Au contraire, avec le suc d'Orange cru ou bouilli, ou la solution d'acide citrique d'égale acidité, les prélèvements faits au bout de 3 heures donnèrent un bon développement du *B. carotovorus* sur le bouillon où ils sont reportés. Donc, ces liquides ne tuent pas le bacille en 3 heures. Mais de nouveaux prélèvements effectués au bout de 24 heures, donnent des résultats négatifs. Donc, le suc d'Orange, ou la solution d'acide citrique correspondante, tuent le *B. carotovorus* en moins de 24 heures.

L'immunité des Citrons et des Oranges envers le *B. carotovorus* est donc due à l'action bactéricide du suc de ces fruits et l'identité des effets bactéricides des sucs crus et bouillis et des solutions d'acide citri-

que correspondantes montre que cette action bactéricide est bien due au degré élevé d'acidité de ces sucs.

Examinons maintenant le cas de l'immunité de la Pomme envers le *B. carotovorus*. Il ne s'agit pas d'une réaction vitale, de la part du fruit, peu vraisemblable d'ailleurs, car, sur des tranches de Pomme découpées aseptiquement, puis tuées par le froid ou les vapeurs de chloroforme, le Bacille ne se développe pas. La substance empêchante n'est pas thermolabile, car le développement n'a pas lieu non plus sur tranche de Pomme ou suc de Pomme stérilisés à l'autoclave.

D'autre part, l'immunité n'est pas due à la résistance des tissus de la Pomme aux sécrétions du Bacille, car, à épaisseur égale, ils sont désorganisés par celle-ci trois fois plus rapidement que ceux de la Carotte, qui est très facilement attaquée par ce microorganisme.

La cause de l'immunité doit donc être cherchée dans la composition chimique du suc cellulaire. Mais, cette fois, l'acidité ne semble plus devoir entrer en jeu : divers dosages ont indiqué une acidité, variant de 0,004 N. à 0,010 N., bien inférieure à celle de la Tomate où le Bacille se développe très bien.

Nous pensons que c'est dans les sucres contenus dans le suc de Pomme, qu'il faut rechercher la cause de son pouvoir empêchant. Jones (122) a en effet montré que la présence de doses notables de sucres dans les milieux de culture, entravait le développement du *B. carotovorus*. Le glucose et le lactose sont

les plus nuisibles; le saccharose l'est peu. 5 % de glucose entrave presque tout développement. Or, les tissus de la Pomme sont très riches en sucres réducteurs (11 % environ, en moyenne) : cette quantité est largement suffisante pour rendre la Pomme réfractaire aux attaques du Bacille.

Au contraire, l'immunité de la Betterave ne réside pas dans la composition chimique de son suc. On sait qu'elle peut contenir jusqu'à 12 ou 14 % de sucre; mais ce sucre est du saccharose, qui n'entrave que très peu le développement du *B. carotovorus*. Et, en effet, ensemencé sur des morceaux aseptiques de Betterave préalablement tués par les vapeurs de chloroforme, cette Bactérie pousse rapidement et finit par les ramollir. On remarque cependant qu'ils conservent toujours une certaine cohérence, que des morceaux de Carotte attaqués par le Bacille ne possèdent pas, étant réduits en bouillie au moindre contact. Ceci conduit à se demander si, contrairement à ce qui a lieu pour la Pomme, l'immunité de la Betterave ne serait pas en relation avec une grande résistance de ses tissus à l'action désorganisatrice des sécrétions du *B. carotovorus*.

L'expérience montre qu'en effet, si l'on plonge des coupes de Carotte et de Betterave, de même épaisseur, dans le liquide de culture du *B. carotovorus*, tandis que les tissus de la Carotte sont rapidement dissociés, ceux de la Betterave exigent, pour arriver à un degré de dissociation toujours moindre, un temps trente fois supérieur en moyenne. On conçoit que la résistance des tissus de la Betterave à l'action

de l'enzyme sécrétée par le Bacille soit un obstacle efficace à l'extension de celui-ci.

Quant au comportement de l'*Opuntia* vis-à-vis du *Bacillus carotovorus*, il est analogue à celui dont cette plante fait montre vis-à-vis du *Botrytis cinerea*. Les endroits injectés se nécrosent et s'entourent d'une barrière cicatricielle. Lorsque la vitalité de la cladode vient à faiblir, le Bacille s'étend rapidement. De même, si on l'injecte dans une cladode cueillie depuis longtemps, il l'envahit de suite. L'immunité des cladodes attenantes à la plante-mère, ou récemment cueillies, repose donc sur des réactions conditionnées par la vitalité des cellules.

## CHAPITRE IV

# Recherches sur l'Immunité acquise et l'Anaphylaxie chez les Végétaux

La possibilité de l'existence d'une immunité acquise chez les Végétaux a été souvent mise en doute *a priori*. Assez récemment encore, Blackmann, se basant principalement sur la grande autonomie des diverses parties de la plante et le manque d'une circulation comparable à celle des Animaux, a développé cette opinion. Mais d'autres biologistes, dont le premier en date est M. Beauverie, sont passés du domaine des raisonnements dans le domaine des faits et ont tenté l'étude expérimentale de la question. Nous avons vu, dans le chapitre consacré à l'historique, qu'ils ont pu constater un certain nombre de résultats positifs.

Nous avons également réalisé quelques expériences, qui apportent de nouveaux exemples de la possibilité pour les Végétaux de s'immuniser contre les maladies parasitaires.

### *A. — Essais d'Immunisation contre la Toile*

M. Beauverie avait obtenu des résultats positifs d'immunisation contre la Toile, par inoculation préalable du terreau avec une forme atténuée du Champignon. Nous avons pensé à modifier son procédé, en utilisant comme agent immunisant les sécrétions du Champignon virulent, cultivé en matras à fond plat, sur bouillon de carotte, milieu où il se développe très rapidement à une température de 20° à 25°.

Notre méthode consistait à cultiver des Haricots (Variété Soissons), sur du terreau stérilisé, dans de petits godets de 5 cm. de diamètre. On mettait une graine de Haricot par godet; lorsqu'il commençait à épanouir ses cotylédons, on l'arrosait chaque jour avec le liquide de culture du Champignon de la Toile. Ce liquide était d'abord administré étendu d'eau, puis pur, au bout d'une huitaine de jours. Le liquide d'arrosage en excès, s'écoulait par le fond du godet, dans un verre de montre placé en-dessous, de telle sorte que, dans l'intervalle des arrosages il était résorbé par le terreau, ou même, directement par les racines, qui, vu l'exiguité du godet, ne tardaient pas à en sortir quelque peu et à plonger leur extrémité dans le liquide contenu dans le verre de montre. De cette façon, on assurait une bonne utilisation du liquide d'arrosage. Ce traitement n'affectait en rien les Haricots, qui se développaient, dans ces conditions, aussi vigoureusement que des Haricots témoins.

*Expérience I.* — On arrose une plantule de Haricot pendant quinze jours, avec le liquide de culture, dont 100 cm³ sont ainsi administrés. Le 21 Septembre, on cesse ce traitement et on met ce Haricot sous une cloche de verre, en atmosphère saturée d'humidité, à une température de 20° environ, ainsi que quatre Haricots témoins de même âge. On dépose sur le terreau de chaque godet, un fragment de voile mycélien du Champignon de la Toile, provenant d'une culture pure. Les conditions de développement de la Toile étant réalisées, dès le lendemain, le Champignon commence à se propager à la surface du terreau, et bientôt, il atteint le collet des Haricots et grimpe le long des tiges, fixant çà et là ses crampons. Aux endroits attaqués, s'exsudent des gouttelettes d'un liquide jaune foncé, légèrement acide.

Dès le 29, un des Haricots témoins a sa tige presque complètement sectionnée et ses feuilles flétries. Les trois autres sont sectionnés le 3 Octobre.

Le Haricot traité, examiné le 11 Octobre, c'est-à-dire 20 jours après l'inoculation, présente un aspect presque normal. La Toile a, pendant les premiers jours, attaqué la tige à peu près comme celle des témoins, mais, par la suite, les lésions ont rapidement cessé de progresser, de sorte que la tige, qui n'est que très légèrement altérée, peut se cicatriser.

*Expérience II.* — On arrose pendant dix jours avec le liquide de culture du Champignon de la Toile, une plantule de Haricot dans un godet rempli de terreau stérilisé. On y répand ainsi 100 cm³ de liquide. On cesse le traitement le 26 Octobre et le 29, on inocule comme dans l'expérience précédente, le Haricot traité et un Haricot témoin de même âge et de même force. On les met tous deux sous une cloche de verre, en atmosphère saturée d'humidité, à 20° environ. Dès le lendemain, la Toile s'est étendue de 1 cm. environ sur le terreau, puis, les jours suivants, elle grimpe le long des tiges à la surface desquelles elle forme un duvet. Les tiges sont bientôt attaquées, des goutelettes brunâtres en suintent, mais la tige du Hari-

cot témoin est manifestement plus malade que celle du Haricot traité. Vers le 5 Novembre, les progrès de la maladie cessent sur ce dernier.

Le 11 Novembre, le témoin, complètement pourri, a sa tige affaissée sur le sol. La tige du Haricot traité reste rigide et commence à se cicatriser.

De ces expériences, il semble bien ressortir que l'arrosage prolongé par le liquide de culture du Champignon de la Toile, exerce un effet immunisant sur les plantules de Haricot, qui, d'abord attaquées comme les plantes témoins, réagissent ensuite et arrivent à arrêter les progrès du Champignon dans leurs tissus, par un processus dont le mécanisme nous échappe d'ailleurs encore complètement. Il semble cependant que la seule hypothèse admissible, étant donné le mécanisme de l'action parasitaire de la Toile, est celle de la production par la plante, d'antitoxines annihilant l'effet des sécrétions nécrosantes du Champignon et arrêtant par conséquent son développement qui ne peut avoir lieu que dans des tissus préalablement tués par ces sécrétions. La cicatrisation intervient ensuite pour parachever la guérison.

### *B. — Essais d'Immunisation contre le Bacillus carotovorus*

Dans ces expériences, au lieu d'employer les racines comme voie d'absorption, nous injections dans la tige de la plante le liquide destiné à l'immuniser. Les Fèves se prêtent parfaitement à ces injec-

tions, grâce à leur tige parcourue dans toute sa longueur par une lacune médullaire ininterrompue.

Pour pratiquer une injection, on se sert d'une seringue de Pravaz munie d'une aiguille fine. On perce un petit trou à la partie supérieure de la tige, pour mettre la lacune en communication avec l'air extérieur, puis, à la base de la tige, on enfonce l'aiguille jusqu'à la lacune, et on pousse le piston de la seringue. Grâce à l'orifice pratiqué à la partie supérieure de la tige, le liquide pénètre facilement. Une fois la quantité voulue introduite (quantité qui ne peut d'ailleurs dépasser la capacité de la lacune médullaire), on obture l'orifice supérieur avec du collodion, puis on retire l'aiguille et on obture également la plaie avec du collodion. En injectant un liquide coloré par le rouge neutre (colorant vital ne nuisant aucunement à la plante, qui après cette opération, continue à végéter normalement), on peut, par transparence, apercevoir le liquide monter dans la tige jusqu'à une certaine hauteur, puis être ensuite résorbé. Des coupes de la tige montrent que le liquide a imprégné toute l'épaisseur des tissus. Le bois primaire et secondaire, le bois des faisceaux foliaires, les fibres et la cuticule de l'épiderme fixent le colorant et sont fortement teintés en rouge. L'absorption par cette méthode est donc assurée.

Si l'on injecte à une Fève d'environ 30 cm. de hauteur, 0 $cm^3$ 5 de culture récente (sur bouillon ordinaire) de *Bacillus carotovorus* et qu'on la laisse à une température de 16 à 18°, elle périt ordinairement en 36 à 48 heures. La tige noircit et s'affaisse.

Les tissus, fourmillant de Bactéries, sont complètement désorganisés, à l'exception de l'épiderme, dont la cuticule reste intacte. Si, au contraire, on injecte la même quantité du liquide de culture filtré sur bougie Chamberland, liquide qui, on le sait, possède la propriété de tuer et dissocier rapidement la plupart des tissus végétaux qu'on y plonge, y compris ceux de la Fève, la plante ne présente, à la suite de cette opération, aucun symptôme grave, tout au plus un léger noircissement des cellules bordant la lacune médullaire et, parfois, un très léger flétrissement des feuilles. Ce qui s'explique en considérant que la quantité de liquide injecté est minime par rapport au volume des tissus dans lesquels il se diffuse.

On pouvait donc songer à utiliser l'injection de ce filtrat pour essayer d'immuniser des Fèves. Voici les expériences que nous avons réalisées à ce sujet.

*Expérience I.* — On injecte à deux jeunes pieds de Fèves respectivement 0,25 et 0,50 cm³ de filtrat de culture de *B. carotovorus*. Quinze jours plus tard, on leur injecte à chacune, ainsi qu'à une Fève témoin, 0,50 cm³ de culture jeune. La Fève témoin meurt, ainsi que celle n'ayant reçu que 0,25 cm³ de filtrat. Celle ayant reçu une injection de 0,50 cm³ de filtrat, résiste.

*Expérience II.* — On choisit huit Fèves plantées à la même date et de force comparable. L'une reçoit 1 cm³ de filtrat, deux autres reçoivent 0,75 cm³ et deux autres, 0,50 cm³. Trois sont conservées comme témoins.

Quinze jours plus tard, on injecte à chacune des huit Fèves 0,50 cm³ de culture de *B. carotovorus* âgée de quatre

jours. Les trois Fèves n'ayant pas reçu d'injection de filtrat meurent rapidement, l'une en 36 heures, les deux autres en 48 heures. Une des Fèves ayant reçu 0,50 cm³ de filtrat meurt en 4 jours. Les quatre autres résistent. On remarquait toutefois que beaucoup de leurs feuilles séchaient et tombaient. Cependant, l'aspect de ces Fèves était bien différent de celui des autres, noircies, affaissées, en complète déliquescence.

L'injection à dose suffisante de filtrat de culture de *Bacillus carotovorus* semble donc bien avoir, chez la Fève, une action immunisante contre cette Bactérie. La même hypothèse qu'en ce qui concerne la Toile, semble s'imposer pour expliquer le mécanisme de cette action.

### *C. — Essais d'Immunisation contre le Bacterium tumefaciens*

Nous avons relaté, dans la partie historique de notre travail, qu'Arnaudi (6) avait constaté que des rameaux de *Pelargonium zonale* portant des tumeurs de *B. tumefaciens,* ne sont pas attaqués par une nouvelle inoculation opérée à 3 ou 4 centimètres au-dessus de la tumeur, avec une souche de Bacilles dont la virulence est démontrée par contrôle simultané sur plante normale.

Presque simultanément, et sans avoir eu connaissance de ces expériences, nous réalisions de notre côté les essais suivants :

*Expérience I.* — Le 19 Septembre 1925, l'axe hypocotylé d'une plantule de Ricin fut inoculé avec le *B. tumefaciens*

d'une culture sur gélose. Environ quinze jours plus tard, commença le développement d'une tumeur, qui, lorsqu'elle eut atteint 1 cm. 5 de diamètre environ, demeura stationnaire, avec tendance à se dessécher. Pensant que cette tendance à la guérison pouvait peut-être provenir d'une réaction immunitaire de la plante, nous eûmes l'idée d'effectuer une deuxième inoculation. Si elle échouait, cela démontrait qu'un état immunitaire s'était, en effet, créé dans la plante.

Une nouvelle inoculation fut donc opérée, cette fois sur le quatrième entre-nœud. Contrairement à notre attente, une volumineuse tumeur s'y produisit bientôt.

Nous pensâmes alors que les Euphorbes, plantes de la même famille que les Ricins, seraient sans doute réceptives pour le *B. tumefaciens*. Dans ce cas nous comptions y trouver des sujets d'expériences très favorables, à cause du système très développé de laticifères non cloisonnés que possèdent ces plantes et qui, on peut du moins le supposer, forme une sorte de système circulatoire pouvant faciliter les interrelations entre les diverses parties du végétal. Ces considérations nous conduisirent à réaliser l'expérience suivante :

*Expérience II.* — Une Euphorbe fut inoculée avec le *B. tumefaciens*, le 29 Décembre 1925, sur le huitième entre-nœud. Bientôt une tumeur y apparaissait : l'Euphorbe est donc réceptive au Bacille. Le 13 Février, elle fut réinoculée au-dessous de l'ombelle : une nouvelle tumeur se développait en ce point, aussi rapidement que sur des Euphorbes témoins inoculées simultanément.

Nous n'avons donc pu constater l'immunisation du Ricin, ni de l'Euphorbe à la suite d'une première

inoculation avec le *B. tumefaciens*. Ces résultats concordant avec les conclusions finales de E.-F. Smith sur ce sujet, nous ne poursuivîmes pas davantage nos recherches dans cette direction. Mais, après avoir eu connaissance, récemment, des expériences d'Arnaudi, nous avons pensé que, peut-être, la deuxième inoculation, pour rester inefficace, doit être effectuée à une très petite distance de la première, comme Arnaudi l'a fait.

En tout cas, l'immunisation serait seulement locale, puisque nos tentatives démontrent qu'elle n'existe pas à une distance de quelques entre-nœuds de la première inoculation. De nouvelles expériences, qui sont en cours, sont nécessaires pour élucider ce point important.

### *D. — Essais d'Anaphylactisation*

Une question que l'on considère généralement comme étroitement connexe avec celle de l'Immunité acquise, est celle de l'Anaphylaxie. On sait que Portier et Ch. Richet ont donné ce nom au phénomène suivant : On injecte à un animal une dose d'une substance toxique, insuffisante pour provoquer des troubles graves, puis, quelques semaines plus tard, une dose comparable ou même plus petite; cette deuxième injection amène brusquement des troubles très caractérisés, aboutissant souvent à une mort rapide. La soudaineté de ces phénomènes leur a fait donner le nom de *choc* anaphylactique.

Plus tard, Arthus montra qu'une substance non

toxique, comme le sérum de Cheval, est susceptible de produire, par injections répétées, des phénomènes d'anaphylaxie, et, depuis lors, d'innombrables travaux ont prouvé que l'injection à un animal, d'une substance protéique quelconque, peut provoquer l'état anaphylactique, après une période d'incubation d'une dizaine de jours au minimum.

Tous ces travaux sur l'Anaphylaxie ont été, à de très rares exceptions près, effectués sur des Mammifères. Cependant, dans ces dernières années, on a été amené à se demander si l'Anaphylaxie peut se manifester chez tous les êtres vivants et c'est ainsi que s'est posée la question de savoir si des phénomènes de cet ordre peuvent être constatés chez les Végétaux.

Les premiers essais dans cette voie furent réalisés par Auguste Lumière et Couturier (144), qui relatent trois expériences positives dans lesquelles des feuilles d'Oseille, un bulbe d'Oignon et un bulbe de Jacinthe, ayant d'abord reçu des injections de 1/100e à 1/50e de $cm^3$ de sérum de Cheval, puis deux à quatre semaines plus tard, des injections de 0,25 à 0,8 $cm^3$ du même sérum, périrent en quelques jours.

A la suite de la publication de ces résultats, nous nous mîmes également, dès 1922 et 1923, à essayer de constater des cas d'anaphylaxie chez les Végétaux.

Nous avons fait des injections de sérum normal de Cheval à des bulbes de Jacinthe et d'Oignon, à des feuilles d'Oignon, et surtout à des tiges de Fève. Les bulbes nous semblèrent, en effet, des matériaux

d'étude peu favorables, car les tissus de ces organes sont très compacts, de sorte que le liquide contenu dans la seringue refuse de s'écouler tant que l'orifice de l'aiguille se trouve dans l'épaisseur d'une écaille du bulbe. Il ne devient possible de pousser le piston que lorsque l'aiguille a complètement perforé l'écaille et que son orifice débouche dans le mince intervalle séparant deux écailles. Mais alors le liquide se répand dans cet intervalle et son absorption nous paraît devoir être difficile, les écailles étant revêtues d'une assise épidermique cutinisée.

C'est pourquoi nous avons, de préférence, utilisé les feuilles aériennes de l'Oignon, qui sont lacuneuses, et surtout les tiges de la Fève, qui, par leur lacune médullaire ininterrompue se prêtent parfaitement aux injections.

Nous avons procédé à une trentaine d'expériences sur les Fèves; les injections préparantes varièrent de 1/200e de $cm^3$ à 1 $cm^3$ de sérum, pur ou dilué dans de l'eau stérilisée (ceci dans le but d'assurer une meilleure diffusion des doses faibles de sérum) et les injections secondes, effectuées deux à trois semaines plus tard, varièrent de 1/4 $cm^3$ à 1 $cm^3$. Dans aucun cas, le flétrissement des Fèves traitées ne fut observé et aucune différence ne fut constatée entre ces plantes et des plantes témoins.

Avec les feuilles d'Oignon, les bulbes de Jacinthe et d'Oignon, nos essais furent moins nombreux. En voici le détail :

FEUILLES D'OIGNON

| 1re Injection | | 2e Injection | |
|---|---|---|---|
| Date | Quantité en $cm^3$. | Date | Quantité en $cm^3$ |
| 24 Mai 1923 | 0,02 | 9 Juin | 0,25 |
| — | 0,02 | — | 0,50 |
| 14 Juin 1923 | 0,02 | 29 Juin | 0,25 |
| — | 0.04 | — | 0,25 |
| — | 0,06 | — | 0,25 |
| 4 Juillet 1923 | 0,02 | 18 Août | 0,50 |
| — | 0,005 dilué dans 0,5 d'eau | — | 0,50 |
| 28 Juillet 1923 | 0,02 dilué dans 1 $cm^3$ d'eau | 11 Août | 0,50 |

BULBES D'OIGNON (de 7 cm. de diamètre environ)

| 1re Injection | | 2e Injection | |
|---|---|---|---|
| Date | Quantités en $cm^3$ | Date | Quantité en $cm^3$ |
| 23 déc. 1922 | 0,01 dil. dans 0,25 d'eau | 18janv. 1923 | 1 $cm^3$ |
| 30 mars 1923 | 0,04 | 20 avril | 0,8 |
| 3 avril 1923 | 0,01 dil. dans 0.25 d'eau | 24 avril | 0,8 |

BULBES DE JACINTHE

| 1re Injection | | 2e Injection | |
|---|---|---|---|
| 1er fév. 1922 | 0,2 | 23 février | 0,25 |
| 9 fév. 1922 | 0,02 | 2 mars | 0,25 |
| — | 0,02 | — | 0,25 |
| | dil. dans 0.25 d'eau | | |
| 30 janv. 1923 | 0,02 | 20 février | 0,25 |
| — | 0,02 | — | 0,25 |
| | dil. dans 0.25 d'eau | | |

Dans aucune de ces expériences, nous ne pûmes constater de différence entre le comportement des plantes injectées deux fois, selon les indications des tableaux ci-dessus, et celui de plantes témoins n'ayant reçu aucune injection. Comme les Fèves, les Oignons et les Jacinthes poursuivirent normalement leur végétation et fleurirent.

Ces essais avaient pris fin depuis près de deux ans, lorsque nous eûmes connaissance de l'expérience de Carbone (51, 53), qui, après par trois injections répétées de semaine en semaine, d'hématies de mouton à des tubercules de Pomme de terre, n'avait constaté aucun signe de souffrance. Cela nous incita à publier, pour prendre date, notre note sur l'Anaphylaxie chez les Végétaux (178), où nous exposions nos résultats et dans laquelle nous concluions ainsi :

« Devant les divergences qui existent entre les « constatations positives de Lumière et Couturier, « et celles, négatives, de Carbone et de nous-même, « deux hypothèses nous viennent à l'esprit : ou bien « la mort des plantes observées par Lumière et Cou- « turier provient de causes fortuites, étrangères à « l'anaphylaxie, ou bien l'obtention de ce choc ana- « phylactique mortel est, chez les plantes, sous la « dépendance de circonstances non encore définies, « qui se seraient trouvées réalisées dans les expé- « riences de ces auteurs, tandis qu'elles étaient ab- « sentes de celles de Carbone et des nôtres.

« Dans la première hypothèse, la mort des plantes « injectées deux fois pourrait être attribuée à un « parasite qui se serait introduit dans les tissus à la « faveur des plaies occasionnées par ces injections « répétées (1). Lumière et Couturier ont noté, dans le « cas du bulbe d'Oignon, que ce bulbe, quelques « jours après la deuxième injection, était « complè- « tement pourri ». Cette pourriture n'était-elle pas « due à un microorganisme phytopathogène ? Dans « une de nos expériences sur les Oignons, nous fû- « mes très surpris de voir que l'une des plantes té- « moins, n'ayant reçu aucune injection, présentait, « à un certain moment, l'aspect exact qu'offre la « plante d'Oignon dont la photographie a été pu- « bliée par Lumière et qu'il considère comme ana-

(1) Pour éviter cette cause d'erreurs éventuelles, toutes nos injections furent faites aseptiquement. La seringue était stérilisée et l'endroit où devait se faire la piqûre, lavé d'abord avec une solution de sublimé à 2 0/00, puis à l'alcool. La plaie était ensuite recouverte de collodion.

« phylactisée. Le bulbe devint également bientôt « complètement pourri. L'examen de cette plante « nous montra qu'elle avait succombé à une attaque « du *Botrytis cana.*

« Toutefois, la deuxième hypothèse demande éga- « lement à être prise en sérieuse considération. « Ch. Richet, Mlle Bachrach et H. Cardot, d'une « part, F. Arloing et Thévenot, d'autre part, ont pu « mettre en évidence chez ces Végétaux inférieurs « que sont les Bactéries, des phénomènes qu'ils ont « rattachés à l'anaphylaxie. Celle-ci peut donc vrai- « semblablement exister chez les Végétaux supé- « rieurs, mais les conditions exactes qui la provo- « quent sont, nous semble-t-il, encore à déterminer. »

Nous n'avons rien à changer à ce que nous écrivions alors, n'ayant pas, depuis, obtenu de nouveaux résultats expérimentaux sur ce sujet. Mais deux groupes d'auteurs se sont occupés de l'anaphylaxie chez les Végétaux, ultérieurement à nos tentatives.

Novoa Santos et Gonzalès Criado, dans une note dont nous n'avons connu l'existence qu'après la publication de la nôtre, relatent, en quelques lignes et sans donner de détails, que *Lilium candidum, Clybia minuta, Calla æthiopica* et *Mimosa pudica,* injectées avec du sérum bovin à 1/50, et injectées à nouveau, après six à dix jours, avec du sérum non dilué, ne présentent aucun phénomène d'hypersensibilité. L'effet de ces injections sur les réactions motrices du *Mimosa pudica* fut nul.

Le délai laissé par ces auteurs entre les deux injections peut sembler trop court pour l'établissement de

l'état anaphylactique. Mais Mongo et Cesaris-Demel, expérimentant sur une vingtaine d'espèces de plantes, avec un intervalle de 32 ou de 54 jours entre les injections (de sérum de cheval ou de leucosine, protéine du grain de blé), n'ont pu constater non plus aucun phénomène d'anaphylaxie.

Les recherches de ces auteurs corroborent donc les nôtres. Il résulte de leurs tentatives, comme des nôtres, que le « choc » mortel décrit par Lumière et Couturier, est à tout le moins exceptionnel.

Nous pensons néanmoins qu'il est possible, et même vraisemblable, que des injections répétées de substances protéiques amènent dans l'économie végétale des modifications que des méthodes d'investigation très sensibles parviendraient peut-être à déceler. On peut supposer, par exemple, des variations du pH, des variations de la résistance plastidaire et mitochondriale, etc. Il y a là un vaste champ de recherches très délicates, mais qui seraient du plus haut intérêt.

## CHAPITRE V

# Considérations générales et Conclusions

Nos recherches nous ont permis d'établir un certain nombre de faits, dont nous allons rappeler les principaux :

1° En général, l'Immunité d'un Végétal ne repose pas sur sa composition chimique, car non seulement son suc permet le développement du Champignon envers lequel il est immun, mais encore, ce Champignon peut attaquer les tissus de ce Végétal, lorsqu'il est mort ou même simplement lorsque sa vitalité faiblit.

2° Notamment, le rôle de certaines substances chimiquement définies (alcaloïdes, huiles essentielles) est, en général, très minime ou nul dans la défense contre les Champignons parasites.

3° Les obstacles mécaniques formés par la plante une fois l'infection commencée ne jouent qu'un rôle secondaire dans l'arrêt du parasite.

4° De nombreux Champignons et Bactéries possèdent la propriété de sécréter une toxine thermolabile et une enzyme (pectinase) dissolvant la lamelle mitoyenne des cellules végétales. Ils peuvent produire, en outre, des substances toxiques thermostabiles.

5° Les sucs végétaux possèdent très souvent la propriété d'empêcher ou d'affaiblir l'action toxique et pectinasique des sécrétions des Champignons. Cet effet ne peut cependant être comparé à celui d'une antitoxine; de plus, il ne semble pas en rapport avec l'immunité.

6° Le caractère exclusivement saprophytique de certains Champignons semble résulter du peu de nocivité de leurs sécrétions.

7° Le fait que les fruits charnus sont attaqués par des Champignons incapables de parasiter les organes végétatifs semble s'expliquer par le peu de résistance des cellules des fruits, dont la vitalité est affaiblie.

8° Par injection préalable de sécrétions fongiques à des cladodes d'*Opuntia,* nous n'avons pu obtenir d'augmentation du pouvoir antitoxique et antipectinasique de leur suc.

De même, par injection de spores, nous n'avons pu provoquer la formation de sporoagglutinines, ni de sporolysines.

9° L'immunité des tubercules des Ophrydées vis-à-vis des Champignons qui attaquent les racines minces de ces plantes, a lieu par un mécanisme de sécrétion particulièrement facile à mettre en évidence.

Nos expériences montrent qu'il s'agit d'une réaction des cellules vivantes.

10° Des résultats encourageants ont été obtenus au sujet de l'immunisation artificielle des Végétaux.

11° Par contre, les tentatives faites en vue de déclencher un « choc anaphylactique » ont échoué.

12° Plusieurs cas d'immunité ont pu être expliqués par l'intervention de facteurs simples. Ainsi l'immunité des feuilles de Laurier-Cerise envers le *Botrytis cinerea* s'explique par la production d'aldéhyde benzoïque; celle de l'Orange et du Citron envers le *Bacillus carotovorus* par l'acidité élevée des sucs; celle de la Pomme envers le même bacille par sa richesse en sucres réducteurs; celle de la Betterave envers ce bacille et le *Sclerotinia Libertiana* par la grande résistance des lamelles mitoyennes à l'action de la pectinase.

Mais ces cas sont des exceptions. Dans l'immense majorité des cas d'immunité, les facteurs mécaniques ou chimiques ne constituent pas la cause principale de la résistance. Tout au plus peuvent-ils jouer un rôle adjuvant.

La théorie du rôle prépondérant du chimiotropisme dans l'Immunité et la Réceptivité, qui est encore la plus couramment admise, ne peut suffire à rendre compte des phénomènes. D'ailleurs, les conclusions du mémoire de Massee, qui est le principal travail produit à l'appui de cette théorie, reposent sur des faits dont, pour un certain nombre, nous avons eu, au cours de nos recherches, l'occasion de constater l'inexactitude. Ainsi, Massee dit que le *Botrytis cine-*

*rea* n'attaque pas les Pommes vertes, ni les Tomates, et que le suc de ce dernier fruit a des propriétés chimiotropiques négatives dues à l'acide oxalique qu'il contient. Or, nous avons vu que les Pommes vertes et les Tomates sont facilement attaquées par le *B. cinerea* et que le suc de Tomate ne contient jamais d'acide oxalique.

Nous avons encore observé d'autres faits qui ne sont pas en faveur de cette théorie. Ainsi, la plupart des plantes immunes envers un Champignon donné, sont facilement envahies par le même Champignon après avoir été tuées par le chloroforme. Si des sucs négativement chimiotropiques existaient dans ces plantes, cet envahissement ne saurait se produire.

Nous avons aussi vu que la Carotte et le Navet, immuns envers le *Botrytis cana,* ne laissent diffuser aucune substance négativement chimiotropique pour ce Champignon. Il en est de même pour l'Oignon vis-à-vis du *Scl. Libertiana.* L'action des tubercules de *Loroglossum hircinum* sur les *Orcheomyces,* n'est pas un phénomène de chimiotropisme. Aucune courbure des hyphes ne se produit au voisinage du fragment de bulbe. Il se produit seulement un arrêt net de la croissance, ce qui est bien différent et est à rapprocher de ce que Clark avait déjà constaté avec des sels toxiques.

Faut-il rappeler que l'immunité envers les Urédinées n'est pas sous la dépendance du chimiotropisme, puisque, d'après des constatations maintes fois vérifiées, les tubes germinatifs de ces parasites sont capables de pénétrer dans les stomates des plantes

immunes et d'attaquer les cellules sous-jacentes. Nous avons exposé, dans la partie historique, comment, d'après les travaux les plus récents, la plante immune se débarrasse du Champignon, en le laissant périr d'inanition. L'infection ne se produisait que lorsque les cellules de l'hôte, assez résistantes pour ne pas succomber sous l'attaque du parasite, continuent à vivre en élaborant les substances grasses qui sont nécessaires à l'Urédinée. La réceptivité résulte d'une étroite adaptation réciproque de l'hôte et du parasite.

Cependant, les théories admettant que les Urédinées ne peuvent se développer que si les cellules de la plante-hôte élaborent pour elles des aliments spécifiquement adaptés cadrent mal avec les résultats de Ray (196), réussissant à cultiver plusieurs de ces Champignons *in vitro*.

Quoi qu'il en soit, la théorie de l'immunité par hypersensibilité envers les Rouilles est des plus intéressantes au point de vue de l'Immunologie comparée, car rien de pareil n'a été signalé jusqu'ici chez les Animaux.

Chez ceux-ci on ne connaît, comme défenses passives, que des obstacles mécaniques et, parfois, des propriétés parasiticides et antitoxiques des humeurs normales. Rien de semblable aux procédés de défense par composés chimiquement définis n'est non plus connu chez eux.

Les processus de défense active sont comparables dans les deux Règnes. Toutefois, en Immunologie Végétale, le rôle de la phagocytose est forcément

restreint. Le rôle prépondérant doit donc appartenir aux réactions humorales. Mais celles-ci n'ont, jusqu'à présent, guère pu être décelées, sauf dans le cas des tubercules des Ophrydées, où, sans doute par suite de l'infestation habituelle de ces plantes, les réactions sont intenses.

Il est probable qu'ordinairement le conflit des sécrétions du parasite et de la plante reste très étroitement localisé, d'où la difficulté de déceler les substances qui y participent. Peut-être des perfectionnements de technique permettront-ils ultérieurement d'analyser de plus près les phénomènes et de rendre compte des différences de comportement d'une même plante envers divers parasites, c'est-à-dire de résoudre le problème de la spécificité.

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE


1. Aderhold (R.). — Beobachtungen über zwei Fruchtfäulnisarten. (*Centr. f. Bakt.*, Abt. II, Bd. V, 1899, p. 522.)
2. Allen (Miss R. F.). — A cytological study of infection of Baart and Kanred wheats by *Puccinia graminis tritici* (*Journ. Agr. Res.*, 1923).
3. André. — Chimie végétale.
4. Appel (O.). — Zur Kenntniss der Bakterienfäule der Kartoffeln. (*Ber. deutsch. bot. Gesell.*, 1902.)
5. Arloing (F.) et Thévenot (L.). — Essais sur l'anaphylaxie chez les Bactéries (*C. R. Soc. Biol.*, 1922).
6. Arnaudi (C.). — Sull' immunità acquisita nei vegetali (*Atti della Soc. ital. di Scienze nat.*, 1925).
7. Arrhenius (O.). — Untersuchungen über den Zusammenhang von Gelbrostresistenz und der aktuellen und potentiellen Azidität des Zellsaftes und der Gewebe (*Ztschr. f. Pflanzenkrankh.*, 1924).
8. Arthus. — Précis de Physiologie microbienne.
9. — Injections répétées de sérum de cheval chez le lapin. (*C. R. Soc. Biol.*, 1903.)
10. Atti Degli. — L'acidità dei succhi in alcuni vitigni e la loro resistenza alle malattie (*Ann. d. R. Scuola Sup. di Agric. di Portici*, 1916).
11. Averna Sicca. — L'acidita dei succhi delle piante in rapporto alla resistenza contro gli attachi dei parasiti (*Staz. sperim. agr. ital.*, vol. 43, 1910).

11*bis*. Bachrach (M^lle). — Variations biologiques d'un organisme monocellulaire : Accoutumance et Anaphylaxie chez le Bacille lactique. (*Thèse Sciences,* Paris, et *Ann. Sc. Nat., Botanique,* 1924, 10^e Série, VI, 73-165.)

11[3] — Les phénomènes de sensibilisation chez les microbes (*Arch. intern, physiol.,* XXVI, 147-154, 1926).

11[4] — Les effets de l'intoxication du Bacille lactique par le chlorure de potassium à différentes températures (C. R. Ac. Sc., CLXXXII, 1042, 1926).

12. Balls (W. L.). — Infection of plants by rust fungi (*The New Phytologist.,* 1905).

13. Beauverie (J.). — Le *Botrytis cinerea* et la maladie de la Toile (*C. R. Ac. Sc.*, 15 mai et 27 mai 1899).

14. — Etudes sur le polymorphisme des Champignons (*Th. Sc. Lyon,* 1900).

15. — Essais d'immunisation des végétaux contre les maladies cryptogamiques (*C. R. Ac. Sc., t.* 133, 1901).

16. — Corpuscules métachromatiques et phagocytose chez les végétaux (*C. R. Soc. Biol.,* t. 75, 1913).

17. — La résistance plastidaire et mitochondriale et le parasitisme (*C. R. Ac. Sc.,* t. 172, 1921).

18. — La résistance plastidaire et mitochondriale. Esquisse d'une méthode applicable à l'étude du parasitisme et des maladies des plantes (*Revue d'Auvergne. Organe des Amis de l'Université de Clermont,* 1921).

18*bis*.— Sur la germination des urédospores des rouilles du blé (*C. R. Ac. Sc.,* 10 nov. 1924, p. 993).

18[3]. — Sur les modes de dégénérescence des chloroplastes, particulièrement dans le parasitisme (*C. R. Ac. Sc.,* 12 juillet 1926, t. 183, p. 140).

18[4]. — Sur les bases cytologiques de la théorie du mycoplasme (*C. R. Ac. Sc.,* t. 182, p. 1347, 31 mai 1926).

18[5]. — Critique des bases cytologiques de la théorie du mycoplasme. (*Rev. de Path. Vég. et d'Entom. agr.,* t. XIII, 1926).

19. Behrens (J.). — Beiträge zur Kenntniss der Obstfäulniss (*Centr. f. Bakt.*, Abt. II, Bd. IV, 1898).

20. Berlese (A.). — Sulla predisposizione delle piante alle infezioni parassitarie ed alla vaccinazione delle medesime (*Riv. di Patol. veg.*, t. II).

21. Bernard (Noël). — Etudes sur la tubérisation (*Rev. gén. de Bot.*, 1902).

22. — Recherches expérimentales sur les Orchidées (*Rev. gén. de Bot.*, 1904).

23. — L'évolution dans la Symbiose (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9e série, t. IX, 1909).

24. — Remarques sur l'immunité chez les plantes (*Bull. Inst. Past.*, 1909).

25. — Les mycorhizes des *Solanum* (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9e série, t. XIV, 1911).

26. — Sur la fonction fungicide des bulbes d'Ophrydées (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9e série, t. XIV, 1911).

27. Bernard (Mme Noël) et Magrou (J.). — Les mycorhizes des pommes de terre sauvages (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9e série, t. XIV, 1911).

28. Bewley (W. F.). — Sleepy disease of the tomato (*Ann. of Applied Biology*, 1922).

29. Biffen (R. H.). — Rust in wheat (*Journ. Board Agr.*, London, 1908).

30. Blackmann (V. H.). — Discussion on some similarties and dissimilarties betwen plant and animal diseases, with special reference to Immunity and Virus diseases (*Brit. medical Journ.*, 1922).

31. Blackmann (V. H.) and Welsford (E. J.). — Studies in the physiology of parasitism. II. — Infection by *Botrytis cinerea* (*Ann. of Bot.*, 1916).

32. Bokorny (Th.). — Selbschutz der Pflanzen gegen Pilze (*Biolog. Centrabl.*, 1899).

33. Bordet (J.). — Traité de l'Immunité dans les maladies infectieuses.

34. Bouchard (Ch.). — Traité de Pathologie générale, t. I, 1895.

35. Bourcart. — Les maladies des Plantes.

36. Boyle (C.). — Studies in the Physiology of Parasitism, VI. — Infection by *Sclerotinia Libertiana* (*Ann. of Bot.*, 1921).

37. Brands (E. W.). — Banana wilt (*Phytopathology*, 1919).

38. Brefeld. — Botanische Untersuchung über Pilze, 1872.

39. Brick (C.). — Bericht über die Tätigkeit der Abteilung für Pflanzenschutz (*Centr. f. Bakt.*, II Abt., Bd. X, 1903).

40. Brooks (F. T.). — Observations on the biology of *Botrytis cinerea* (*Ann. of Bot.*, 1908).

41. Brown (W.). — Studies in the Physiology of Parasitism. I. — The action of *Botrytis cinerea* (*Ann. of Bot.*, 1915).

42. — Studies in the Physiology of Parasitism. III. — On the relation between the « infection-drop » and the underlying host-tissue (*Ann. of Bot.*, 1916).

43. — id. IV. — On the distribution of cytase in cultures of *Botrytis cinerea* (*Ann. of Bot.*, 1917).

44. — id. VIII. — On the exosmosing of nutrient substances from the host-tissue into the infection-drop (*Ann. of Bot.*, 1922).

45. — id. IX. — The effect on the germination of fungi spores of volatile substances arising from plant tissues (*Ann. of Bot.*, 1922).

46. Burgeff. — Die Wurzelpilze der Orchideen. Iena, 1909.

47. — Die Anzucht tropischer Orchideen aus Samen. Iena, 1911.

48. Büsgen (M.). — Uber einige Eigenschaften der Keimlinge parasitischer Pilze (*Bot. Zeit.*, 1893).

48*bis*. — Biologische Studien mit *Botrytis cinerea* (*Flora*, 1918).

49. Butler (E. J.). — Immunity and diseases in plants (*Agr. Journ. India*, 1918).

50. Cappelletti (C.). — Reazioni immunitarie nei tubercoli radicali di Leguminose (*Giornale di Biologia e medicina sperim.*, 1923, et aussi, *Ann. di Bot.*, 1924).

51. Carbone (D.). — Studii sulle reazioni immunitarie delle piante (*Boll. Istituto Sieroterapico milanese*, 1922).

52. — La reazioni immunitarie delle piante (*Biochimica e Terapia sperimentale*, 1923).
53. — Risultati degli studi sulle reazioni immunitarie delle piante (*Boll. della Soc. Bot. ital.*, 1925).
54. — L'immunità nelle piante (*Riv. di Biol.*, 1926).
55. Carbone (D.) e Arnaudi (C.). — Nuove esperienze sulle reazioni immunitarie delle piante (*Atti della Soc. ital. di Sc. nat.*, 1924).
56. — Ancora sulle reazioni immunitarie delle piante (*Atti della Soc. ital. di Sc. nat.*, 1925).
57. Carbone (D.) e França (C.). — Studii sulle reazioni immunitarie delle piante : esperienze col *Drosophyllum lusitanicum* Link (*Atti della Soc. Lombarda di Sc. mediche e biol.*, 1923).
58. Carbone (D.), Quarella (B.) e Venturelli (G.). — Microbi saprofiti e microbi patogeni (*Riv. di Biol.*, 1919).
59. Cattaneo. — Ref. Just's bot. Jahresbericht, 1877 et 1879.
60. Charrin (A.). — Le Bacille pyocyanique chez les végétaux (*C. R. Ac. Sc.*, t. 116, 1893).
61. — Cellule végétale et microbe pathogène (*C. R. Soc. Biol.*, 1893).
62. — Pathologie animale et Pathologie végétale (*Rev. de Viticult.*, 1895).
63. Charrin (A.) et Viala (P.). — Le microbe de la gélivure et la pathologie générale des deux règnes, animal et végétal (*Rev. de Vitic.*, 1899).
64. — Microbe de la gélivure. Variation du terrain (*C. R. Soc. Biol.*, 1899).
65. Chodat. — Le noyau cellulaire dans quelques cas de parasitisme ou de symbiose intercellulaire (*Congr. intern. de Bot.*, 1900).
66. Chodat et Lendner. — Sur les mycorhizes du *Listera cordata*. (*Rev. Mycol.*, 1898.)
67 Clark (J. F.). — On the toxic properties of some copper compounds with special reference to Bordeaux mixture (*Bot. Gaz.*, 1902).
68. Cobb (N. A.). — Contributions to an economic knowledge of the Australian rusts (*Agr. Gaz. N. S. Wales*, 1890-92).

69. Comes (O.). — Della resistenza dei frumenti alle rugini (*Atti R. Istituto d'Incoragg. Napoli*, 1912).

70. — La Prophylaxie en Pathologie végétale (*R. Ist. Incorag. Napoli*, 1916, et *Bull. mens. Renseign. agr. et malad. des plantes*, 1916).

71. Costantin (J.). — Les Mucédinées simples.

72. — La Vie des Orchidées.

73. Costantin (J.) et Dufour (L.). — Sur la biologie du *Goodyera repens*. (*Rev. gén. de Bot.*, 1920.)

73*bis*. Courmont (P.), Morel (A.) et Bay. — Sur le pouvoir infertilisant de quelques essences végétales vis-à-vis du bacille tuberculeux humain (*Soc. de Biologie*, 2 mai 1927).

74. Craig (J.) and Van Hook (J. M.). — Pink rot, an attendant of Apple Scab (*Cornell Univ. Agr. Exp. St.*, 1902, Bull. 207).

75. Dangeard (P. A.). — Rech. sur les tubercules radicaux des Légumineuses (*Le Botaniste*, 1926).

76. Dangeard et Armand. — Observations sur la biologie cellulaire des mycorhizes de l'*Ophrys aranifera* (*Le Botaniste*, 1897).

77. D'Arsonval et Charrin. — Action des microbes pathogènes sur la cellule végétale (*C. R. Soc. Biol.*, 1893).

78. Davaine. — Rech. sur le sang de rate (*C. R. Ac. Sc.*, 1863 et 1864).

79. — Rech. sur la pourriture des fruits (*C. R. Ac. Sc.*, t. 63, 1866).

80. — Rech. sur la pourriture des fruits et des autres parties des végétaux vivants (*C. R. Ac. Sc.*, 1866).

81. Dastre. — Sur la dialyse chloroformique comme procédé de recherches des ferments endocellulaires (*C. R. Soc. Biol.*, 1901).

82. De Bary. — Rech. sur le développement de quelques Champignons parasites. (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 4e sér. T, 20, 1863).

83. — Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. 1884.

84. — Uber einige Sclerotien und Sclerotienkrankheiten (*Bot. Zeit.*, 1886).
85. — Leçons sur les Bactéries, 1886.
86. Delacroix et Maublanc. — Maladies des plantes cultivées, 1916.
87. Doussain (Ch.). — Considérations sur l'immunité chez les végétaux (*Rev. de Path. comp.*, 1925).
88. Dubois (R.). — Action des liquides organiques neutres sur la substance organisée (*C. R. Soc. Biol.*, 1883).
89. — Atmolyse et atmolyseur. (*C. R. Ac. Sc.*, t. 153, 1911).
90. Ducomet. — Pathologie végétale. Paris, 1908.
90*bis*. Dufrénoy (J.). — Mycocécidies observées dans la vallée de Barège. (*Rev. de path. vég. et d'entom. agr.*, t. XIII, 1926).
91. Eisler und Portheim. — Uber ein Hämagglutinin im Samen von *Datura*. (*Zeitschr. f. Immunitätsf*, 1908).
92. — Uber ein Hämagglutinin in Euphorbien (*Centr. f. Bakt.*, Abt. I, Orig. Bd. 66, 1912).
93. — Uber ein Hämagglutinin in Pflanzen (*Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch.* Bd. 29, 1911).
94. — Uber die Biologie des *Bacillus carotovorus* (Jones). (*Mitt. Staatl. Serotherap. Inst. Wien*, 1920).
95. Eriksson (J.) et Hammerlund (C.). — Essai d'immunisation de la Rose Trémière contre la maladie de la Rouille (*C. R. Ac. Sc.*, 1914).
96. Eriksson und Hennings. — Die Getreideroste, 463 p., 13 pl. col., Stockholm, 1896.
97. Fabre (J.-H.). — Rech. sur les tubercules de l'*Himantoglossum hircinum*. (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 4e série, t. V, 1855).
98. Farrer (W.). — The making and improvements of wheats for Australian conditions (*Agr. Gaz. N. S. Wales*, 1898).
99. Fischer (E.). — Die Spezialisation bei den parasitischen Pilzen und die toxischen Idiopathien beim Menschen (*Mitt. d. Naturf. Gesellsch. Bern*, 1921).

100. Foex (E.). — Quelques problèmes relatifs aux Rouilles des Céréales (*Rev. de Bot. appl. et d'Agr. colon.*, 1923).

100*bis* — Des facteurs qui assurent la sensibilité et la résistance aux rouilles des céréales. (Grenoble, *A. F. A. S.*, 1925, p. 330.)

101. Freemann (E.-N.). — Resistance and Immunity in plant diseases. (*Phytopathology*, 1911.)

102. Fromme (F. D.). — The culture of cereal rusts in the greenhouse (*Bull. Torrey Bot. Club*, vol. 40, 1913).

103. Fulton (H. R.). — Chemotropism of fungi (*Bot. Gaz.*, 1906).

104. Gallaud. — Etudes sur les mycorhizes endotrophes (*Rev. gén. Bot.*, 1905).

105. Galloway (B. T.). — A rust and leaf-casting of pine leaves (*Bot. Gaz.*, 1896).

106. Gérard (R.). — Destruction de la Toile (*Journ. Soc. Hort. prat. du Rhône*, 1897).

107. — A propos de la Toile (*id.*).

108. Gibson (Miss C.). — Notes of infection experiments with various Uredinae (*The New Phytologist*, 1904).

108*bis*. Gillespie and Hurst. — Hydrogen-ion concentration. Soil type. Common potato scab. (*Soil Science*, septemb. 1918).

109. Guillon. — Recherches sur le développement du *Botrytis cinerea*. (*C. R. Ac. Sc.*, t. 142, 1906.)

109*bis*. Hartner and Weimer. — A comparison of the pectinase produced by different species of *Rhizopus* (*J. of. Agr. Research*, vol. XXII, 1921).

109*ter* — Hydrogen-ion changes induced by species of *Rhizopus* and by *Botrytis cinerea* (*J. of. Agric. Research.*, vol. XXV, 1923).

109⁴ — Some physiological variations in strains of *Rhizopus nigricans*. (*J. of Agric. Research.*, vol. XXV, 1923).

110. Hauman-Merck (L.). — Contrib. à l'étude des altérations microbiennes des organes charnus des plantes (*Ann. Inst. Past.*, 1913).

111. Haskell (R. J.). — Fusarium wilt of potato (*Phytopath*, 1919).

112. Henning (E. I.). — Die bei unseren wichtigeren landwirtschaftl. Pflanzen vorhandene Disposition für und Immunität gegen parasitische Pilze (*Jahr. Pflanzenkrankh*, 1909).

113. Hiltner (L.) und Störmer (K.). — Neue Untersuch. üb. die Wurzelknöllchen der Leguminosen und deren Erreger (*Arb. biol. Abt. f. Land-u-Forstwirtschaft am K. Gesundheitsamte*, 1903).

114. Hurd (Miss Annie M.). — Hydrogen-ion concentr. and varietal resistance of wheat to stem rust and other diseases (*Journ. Agr. Res.*, 1923).

115. Hursh (C. R.). — Morph. and physiol. studies on the resistance of wheat to *Puccinia graminis tritici* (*Journ. Agr. Res.*, 1924).

116.— Sur la toxicité des milieux de culture des Champignons phytopathogènes, vis-à-vis des plantes (*Rev. de Path. vég. et Entom. agr.*, 1925).

116*bis* — The relation of temperature and hydrogen-ion concentration to urediniospore germination of biologic forms of stem rust of wheat (*Phytopathology*, v. 12, 7 fig., 1922).

117. Irmisch. — Beitrag zur Biol. und Morph. der Orchideen, 1853.

118. Istvanffi (G. de). — Etudes microb. et mycol. sur le Rot gris de la Vigne (*Botrytis cinerea* ou *Sclerotinia Fuckeliana*). (*Ann. Inst. Centr. Ampélol. Hongr.*, 1905).

119. Iwanoff (K. S.). — Uber *Trichothecium roseum* Link, als Ursache der Bitterfaüle von Früchten (*Zeitschr. f. Pflanzenkr.*, 1904).

120. Janse. — Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises. (*Ann. Jard. Bot. Buitenzorg.*, 1896.)

121. Jensen (H.). — Versuche über Bakterienkrankheiten bei Kartoffeln (*Centr. f. Bakt.* Abt. II, Bd. 6, 1900).

122. Jones (L. R.). — A soft-rot of carrot and other vegetables caused by *Bacillus carotovorus* (*Vermont Exp. St. Rep.*, 13, 1900).

123. — *Bacillus carotovorus* n. sp., die Ursache einer weichen Fäulniss der Möhre. (*Centr. f. Bakt.*, Abt. II, Bd. VII, 1901.)

124. — Stüdien über die cytohydrolytischen Enzyme, die durch die Bakterien, welche weiche Fäulniss bewirken erzeugt werden. (*Centr. f. Bakt.*, Abt. II, Bd. X, 1903).

125. — The cytolytic enzyme produced by *B. carotovorus* and certain other soft-rot Bacteria (*Centr. f. Bakt.*, Abt. II, Bd. XIV, 1905.)

126. — Pectinase, the cytolytic enzyme produced by *B. carotovorus* and certain other soft-rot organisms. (*Vermont Agr. Exp. St.*, Bull. 147, 1909.)

127. Kean (A. L.). — On the nature of certain plant diseases. (*Bot. Gaz.*, 1890.)

128. Kharbush (S.). — Rech. cytologiques sur la résistance des céréales à la Rouille jaune (*Puccinia glumarum*). (*Th. Sc.*, Paris, 1926.)

129. Kirchner (O. von). — Unters. üb. die Empfänglichkeit unserer Getreide f. Brand-und Rostkrankheiten (*Fühlings Landw. Zeitung*, 1916.)

130. Kissling (E.). — Zur Biologie der *Botrytis cinerea* (*Hedwigia*, 1889).

131. Klebahn (H.). — Die wirtwechselnden Rostpilze (*Ber. d. deutsch. bot Gesell*, 1904).

132. — Uber die Botrytiskrankheit der Tulpen. (*Zeitschr. f. Pflanzenkrankh.*, 1904).

133. Korinek (J.). — Au sujet des agglutinines spécifiques chez les végétaux (*Publ. de l'Univ. Charles*, Prague, 1924).

134. Kraus, von Portheim und Yamamouchi. — Biologische Studien über Immunität bei Pflanzen. (*Ber. d. deut. bot. Ges.*, 1907).

135. Krituhewski (J. L.). — Uber bakterielle Agglutinine und Praecipitine vegetabilischer Herkunft im Zusammenhange mit der Frage über die Fähigkeit der Pflanzen Immunitätskörper zu produzieren. (*Zeitschr. f. Immunitätsf*, 1914).

136. Kühn (J.). — Die Krankheiten der Culturgewächse, Berlin. 1859.

137. Laurent (E.). — Rech. exp. sur les maladies des plantes (*Ann. Inst. Past.*, 1899).

138. — De l'action interne du sulfate de cuivre dans la résistance de la Pomme de terre au *Phytophtora infestans* (*C. R. Ac. Sc.*, t. 125, 1902).

138*bis* Lauritzen (J. S.). — The relation of temperature and humidity to infection by certain Fungi (Thèse). (*Phytopatology*, vol. IX, n° 1, jan. 1919).

139. Leach (J. G.). — The parasitism of *Puccinia graminis tritici* Erikss. and Henn. and *Pucc. graminis tritici-compacti* Stock. and Piem. (*Phytopathol.*, 1919.)

140. Lepoutre (L.). — Rech. sur la transformation exp. de bactéries banales en races parasites des plantes (*Ann. Inst. Past.*, 1902).

141. Link. — Icon. selectae anatom. botan. Fasc. II, tabl. VII (1840).

142. Longo e Cesaris-Demel. — Sulla possibilità della sensibilizzazione anafilattica nei vegetali (*Rend. Accad. dei Lincei*, 1925.)

143. Lumière (A.). — Rôle des colloïdes chez les Etres vivants, 1921.

144. Lumière (A.). et Couturier (H.). — L'anaphylaxie chez les végétaux (*C. R. Ac. Sc.*, 1921).

145. Lutz (L.). — Parasitisme du *Sclerotinia Fuckeliana* sur les Quinquinas de culture. (*Bull. Soc. mycol. de Fr.*, 1904.)

146. — Sur la spécificité de quelques Hyménomycètes épiphytes vis-à-vis de leurs supports (*C. R. Ac. Sc.*, t. 180, 1925 et *Bull. Soc. Mycol. de Fr.*, XLI, 1925).

147. — Sur la spécificité vis-à-vis de leurs supports des Champignons du groupe du *Pleurotus Eryngii* (*C. R. Ac. Sc.*, 1925).

148. Mac Dougal. — The mycorhiza of *Aplectrum*. (*Bull. Torr. Bot. Club*, 1898).

149. — Symbiotic saprophytism. (*Ann. of Bot.*, 1899.)

149*bis* — Induced and occasional parasitism. (*Torrey Bot. Club*, XXXVIII, pp.473-479, 1911).

149*ter* — et Cannon. — The conditions of parasitism in Plants. Washington, 1910, 63 pp., 10 pl.

150. Magnus. — Studien an der endotrophen Mycorhiza von *Neottia Nidus-avis*. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1900.)
151. Magrou (J.). — Rôle des microbes dans la vie végétale : maladie et symbiose (*Biologica*, 1913).
152. — L'immunité dans la symbiose (*Ann. Inst. Past.*, 1918).
153. — Symbiose et tubérisation (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 10e sér., t. 3, 1921).
154. — L'immunité humorale chez les plantes (*Rev. Path. vég. et Entom. agr.*, 1924).
155. — A propos du pouvoir fungicide des tubercules d'Ophrydées (*Ann. Sc. Nat.*, 10e sér., t. VI, 1924).
156. — La Symbiose chez les plantes. (*Bull. Inst. Past.*, 1922).
157. Mains (E. B.). — The relation of some rusts to the physiology of their hosts (*Amer. Journ. of Bot.*, 1917).
158. Maire (R.). — La Biologie des Urédinales. (*Prog. Rei bot.*, 1913).
159. Mangin (L.). — Sur la constitution de la membrane des végétaux (*C. R. Ac. Sc.*, 1888).
160. Marchal (E.). — De l'immunisation de la Laitue contre le Meunier (*C. R. Ac. Sc.*, t. 125, 1902).
161. Martin (L.). — De l'atmolyse et de ses applications en Physiologie (*Th. Sc. Lyon*, 1923).
161*bis*. Martin-Rosset (A.). — Contribution à l'étude de la réaction du sol et de son influence sur la végétation. Acidité ionique (pH) et calcimétrie. (*Thèse de l'Université de Lyon*, 1927).
162. Marryat. — Notes on the infection and histology of two wheats immune to the attacks of *Puccinia glumarum*, yellow rust (*Journ. Agr. Sc. Cambridge*, 1907).
163. Massart. — La cicatrisation chez les plantes. Bruxelles, 1897.
164. Massee (G.). — On the origin of parasitism in fungi. (*Philos. Trans. Roy. Soc. of London*, series B, vol. 197, 1904).
165. Matruchot. — Rech. sur le développement de quelques Mucédinées (*Th. Sc. Paris*, 1892).

166. Mazé (P.). — La chlorose toxique du maïs : la sécrétion interne et la résistance naturelle des végétaux supérieurs aux intoxications et aux maladies parasitaires (*C. R. Soc. Biol.*, 1916).

167. Metchnikoff (E.). — Uber eine Sprosspiltzkrankheit der Daphnien (*Virchow's Arch. f. path. Anat. und Physiol.*, 1884).

168. — L'immunité dans les maladies infectieuses, 1901.

169. Miyoshi (M.). — Uber Chemotropismus der Pilze (*Bot. Ztg.*, 1894).

170. — Die Durchborung von Membranen durch Pilzfäden. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1895.)

171. Müller (K.-O.). — Unters. zur Entwicklungsgeschichte und Biologie von *Hypochnus Solani* P. u. D. *Rhizoctonia Solani* K. (*Laborat. f. angew. Vererbungslehre in Berlin-Dahlem, Biolog. Arbeiten*, Bd. III.)

172. Nicolle (M.) et Magrou (J.). — Les maladies parasitaires des plantes. Paris, 1922.

173. Nobécourt (P.). — Les tubercules des Ophrydées. (*Bull. Soc. Bot. de Fr.*, 1921.)

174. — Action de quelques alcaloïdes sur le *Botrytis cinerea* Pers. (*C. R. Ac. Sc.*, t. 172, 1921).

175. — Etude sur les organes souterrains de quelques Ophrydées de Java (*Bull. Soc. Bot. de Fr.*, 1922).

176. — Sur le mécanisme de l'action parasitaire du *Penicillium glaucum* Lk et du *Mucor stolonifer* Ehrb. (*C. R. Ac. Sc.*, t. 174, 1922.)

177. — Sur la production d'anticorps par les tubercules des Ophrydées (*C. R. Ac. Sc.*, t. 177, 1923).

178. — L'anaphylaxie chez les végétaux (*Bull. Soc. Bot. de Fr.*, 1925).

179. Nordhausen (M.). — Beiträge zur Biologie parasitärer Pilze (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1899).

180. Novoa Santos et Gonzalès Criado. — Sur la prétendue anaphylaxie chez les végétaux (*C. R. Soc. Biol.*, 1924).

181. Orton (W. A.). — The development of disease resistant varieties of plants (*C. R. et Rapp. IV^e Conf. intern. Génét.*, Paris, 1911).

182. Pantanelli (E.). — Su l'inquinamento del terreno con Sostanze nocive prodette dai funghi parassiti delle piante (*Rend. dell' Acad. dei Lincei*, vol. XXII, 1913).

183. — Sui rapporti fra nutrizione e recettività per la Rugine (*Riv. di Patologia veg.*, 1921).

184. Paris (G.). — L'acidità dei succhi vegetali come mezzo di defesa contro i parassiti (*Riv. biol.*, 1919).

185. Pasteur (L.). — Etudes sur les maladies des vers à soie, 1869.

186. Petri (L.). — Ricerche sul significato morfologico e fisiologico dei prosporoide (sporangiole di Janse) nelle micorize endotrofe (*Nuov. Giorn. bot. ital.*, 1903).

187. — Un'esperienza sopra il valore del chemotropismo nell' azione parassitaria dei funghi (*Rend. Acc. d. Lincei*, ser. 5, t. 18, 1909).

188. Picado (C.). — Anticorps expérimentaux chez les végétaux. Les végétaux peuvent-ils produire des anticorps à la suite d'inoculations d'antigènes appropriés ? (*Ann. Inst. Pasteur*, 1921).

189. — Sur l'action à distance des Champignons phytopathogènes. (*Congr. Path. vég. Strasbourg*, 1923.)

190. Pfeffer (W.). — Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize (*Ber. deutsch. bot. Gesell.*, 1883).

191. — Physiologie végétale.

192. Portier et Richet (Ch.). — De l'action anaphylactique de certains venins (*C. R. Soc. Biol.*, 1902).

193. Prévost (B.). — Mémoire sur la cause immédiate de la Carie ou Charbon des Blés et de plusieurs autres maladies des plantes. Montauban, 1807 (Résumé in : *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 4^e sér., t. II).

194. Prillieux. — Observ. sur la germination du *Miltonia spectabilis* et de diverses Orchidées (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 4^e série, t. XIII, 1860).

195. Quanjer (J.). — Un nouveau chapitre de la Pathologie végétale reliant cette science à la Pathologie animale (*Rev. Path. vég. et entom. agr.*, 1923).
196. Ray (J.). — Cultures et formes atténuées des maladies cryptogamiques (*C. R. Ac. Sc.*, t. 133, 1901).
197. — Les maladies cryptogamiques des végétaux (*Rev. gén. Bot.*, 1901).
198. — Etudes biologiques sur le parasitisme : *Ustilago Maydis* (*C. R. Ac. Sc.*, t. 136, 1903).
199. — Sur le passage du saprophytisme au parasitisme (*Ass. Fr. Av. Sc., Congrès de Lyon*, 1906)
200. Rayer. — Inoculation du sang de rate (*Mém. Soc. Biol.*, 1850).
201. Reinhardt (M. O.). — Das Wachsthum der Pilzhyphen (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1892).
202. Reinitzer (F.). — *Œsterreich. bot. Zeitsch.*, LII, 1902.
203. Richet (Ch.), Bachrach (Mlle) et Cardot (H.). — Les phénomènes d'anaphylaxie chez les microbes (*C. R. Ac. Sc.*, t. 172, 1921).
204. Roux et Yersin. — Contribution à l'étude de la diphtérie (*Ann. Inst. Past.*, 1889).
205. Russell (H.-L.). — Bacteria in their relation to vegetable tissue (*John Hopkins Hospital Reports*, vol. III, 1893).
206. Ruzicka. — Uber tinktorielle Differenzen zwischen lebenden und abgestorbenden Protoplasmen (*Arch. ges. Physiol.*, CVII, 1905).
207. Saccardo. — Sylloge fungorum.
208. Schiff-Giorgini. — Unters. über die Tuberkelkrankheit des Oelbaumes (*Centr. f. Bakt.*, Abt. II, Bd. XV, 1906).
209. Schlicht. — Uber neue Falle von Symbiose der Pflanzenwurzeln mit Pilze (*Ber. deutsch. bot. Gesell*, 1888).
210. Schmidt (E. W.). — Uber den Parasitismus der Pilze (*Zeitschr. f. Pflanzenkrankh.*, 1909).
211. Scurti (F.) e Sicca (V.). — Sulla resistenza delle diverse varietà di frumento di fronte alle rugini (*Riv. patol. veg.*, 1915).

212. Shibata. — Cytologische Studien über die endotrophen Mycorhizen (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1902).
213. Simonet (M.). — Les Champignons endophytes des Orchidées (*Rev. Path. vég.*, 1925).
214. Smith (E. F.). — Bacteria in relation to plant diseases, 1905-1913.
215. — Bacterial diseases of plants, 1920.
216. Smith (R. E.). — The parasitism of *Botrytis cinerea* (*Bot. Gaz.*, 1902).
217. Spieckermann (A.). — Beitrag zur Kenntniss der bakteriellen Wundfäulniss der Kulturpflanzen (*Landw. Jahrb.*, 1902).
218. Sorauer (P.). — La prédisposition des plantes vis-à-vis des maladies parasitaires (*VI^e Congr. intern. d'Agr.*, Paris, 1900).
219. — Handbuch der Pflanzenkrankheiten, 3^e édit., 1905-1913.
219*bis* Spinks (G. T.). — Factors affecting susceptibility to disease in plants. (*J. Agric. Sc.*, 1913.)
220. Stahl. — Zur Biologie der Myxomyceten. (*Bot. Zeit.*, 1884).
221. Stakman (E. C.). — Relation between *Puccinia graminis* and plants highly resistant to its attacks. (*Journ. Agr. Res.*, 1915).
222. Strange (B.). — Uber chemotactische Reizbewegungen (*Bot. Zeit.*, 1890).
222*bis* Strohl (J.). — Les hormones dans le règne végétal. (*Rev. gén. des Sciences*, 1921).
223. Swingle (W. T.). — Bordeaux mixture, its chemistry, physical properties, and toxic effects on Fungi and Algae. (*Div. Veg. Phys. and Path. U. S. Dept. Agr.*, Bull. t. 9.)
224. Tischler (G.). — Unters. über die Beeinflussung der *Euphorbia Cyparissias* durch *Uromyces Pisi.* (*Flora*, 1912).
225. Tulasne (L. R. et Ch.). — Selecta Fungorum Carpologia, 1861-1865.
226. Vavilov (N.). — Immunity of plants to infections diseases (*Ann. Acad. agron. Petrovskoé*, près Moscou, 1918).

227. Van der Volk (P. C.). — Innere Sekretion bei den Pflanzen (*Umschau*, 1922).

228. Vigliano (C.). — Sulla presenza nelle piante di sostanze agglutinanti, precipitanti, emolizzanti ed antiemolitiche (*Boll. Ist. Sieroterapico milanese*, 1922).

229. Vignal. — Contribution à l'étude des Bactériacées, Paris, 1889.

230. Voglino (P.). — Sul parassitismo e le sviluppo della *Sclerotium cepivorum* nell' *Allium sativum* (*Staz. speriment. agr. ital.*, 1903).

231. Vuillemin (P.). — Considérations générales sur les maladies des végétaux (*Tr. de Path. gén. de Ch. Bouchard*, t. I).

232. Wagner (R. J.). — Uber bakterizide Stoffe in gesunden und kranken Pflanzen (*Centr. f. Bakt.* Abt. II, Bd. 42, 1915).

233. — Wasserstoffionenkonzentration und naturliche Immunität der Pflanzen (*Centr. f. Bakt.* Abt. II, Bd. 44, 1916).

234. Wahrlich. — Beitrag zur Kenntniss der Orchideenwurzelpilze (*Bot. Zeit.*, 1886).

235. Wakker. — Unters. über Einfluss parasitischer Pilze auf ihre Nährpflanzen (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1892).

236. Ward (Marshall). — A lily-disease. (*Ann. of Bot.*, 1888).

237. — On the question of « Predisposition » and « Immunity » in plants (*Cambridge Phil. Soc. Proc.*, II, 1902).

238. — On relation between host and parasite in the Bromes and their brown Rust (*Ann. of Bot.*, 1902).

239. — Recent researches on the parasitism of Fungi (*Ann. of Bot.*, 1905).

239*bis* Webb and Fellows. — The growth of *Ophiobolus graminis* in relation to Hydrogen-ion concentration (*J. of Agr. Research*, vol. 33, 1926).

240. Wehmer (C.). — Untersuchungen über der Faülniss der Früchte (*Beitr. z. Kennt. einheim. Pilze*, 1895).

241. Weimer (J. L.) and Hartner (L. L.). — Influence of temperature on the pectinase production of different species of *Rhizopus*. (*Am. Journ. of Bot.*, 1923).

241*bis* Willaman and Sandstrom. — Biochemistry of plant diseases : III Effect of *Sclerotinia cinerea* on plums (*Bot. Gaz.*, LXXIII, 1922).

242. Woronine. — Uber Taumelgetreide in Süd-Ussurien (*Bot. Zeit.*, 1891).

243. Zach (F.). — Cytol. Unters. an den Rostflecken des Getreides und die Mykoplasmatheorie. (*Sitzungsber. K. Akad. Wiss. Wien*, 1910).

244. Zimmermann (A.). — Sammelreferate über die Beziehungen zwischen Parasit und Wirtspflanze (*Centr. f. Bakt.* Abt. II, Bd. 63 et 65, 1924-25).

245. Zinsser. — Uber das Verhalten von Bakterien, insbesondere von Knöllchenbakterien in lebenden pflanzischen Geweben (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1897).

246. Zoja (A.). — L'immunità nelle piante (*Atti del R. Istituto Bot. dell'Univ. di Pavia*, 1925).

## TABLE des MATIÈRES

Avant-Propos ..... 5

Introduction ..... 7

Chapitre Premier. — *Historique* ..... 13

Chapitre II. — *Recherches sur l'immunité naturelle des végétaux envers les mycoses* ..... 47

A. — Essais d'infection de divers végétaux par différents Champignons ..... 48

B. — Etude des moyens d'attaque des Champignons ..... 60

I. — Actions mécaniques ..... 60

II. — Actions chimiques ..... 63

C. — Etude des moyens de défense des végétaux supérieurs ..... 76

Défenses passives ..... 77

I. — Moyens mécaniques ..... 77

II. — Moyens chimiques ..... 78

Rôle des alcaloïdes ..... 79

Rôle des huiles essentielles ..... 82

Propriétés fongicides des sucs végétaux. 86

Propriétés antitoxiques des sucs végétaux ..... 91

Défenses actives ..... 95

I. — Réactions histogènes ..... 96

II. — Réactions humorales ..... 100

Chapitre III. — *Recherches sur l'immunité naturelle des végétaux envers les bactérioses* ..... 119
Etude particulière de quelques cas d'immunité 127
Chapitre IV. — *Recherches sur l'immunité acquise et l'anaphylaxie chez les végétaux* ..... 133
Essais d'immunisation contre la « Toile » .... 134
Essais d'immunisation contre le « Bacillus Carotovorus » ..... 136
Essais d'immunisation contre le « Bacterium tumefaciens » ..... 139
Essais d'anaphylactisation ..... 141
Chapitre V. — *Considérations générales et Conclusions* ..... 149
Index bibliographique ..... 155

IMP. BOSC FRÈRES & RIOU
42, QUAI GAILLETON
LYON